Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. K. Botzenhart
— Abteilung Mikrobiologie —
Kommissarischer Direktor: Professor Dr. med. K. Botzenhart

UNTERSUCHUNGEN ZUR ISOLIERUNG VON CAMPYLOBACTER FETUS SUBSPEZIES JEJUNI

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard - Karls - Universität
Tübingen

vorgelegt von
SUSAN BRIT KISCHKEL
aus Reutlingen

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543922_0062

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. K. Botzenhart
— Abteilung Mikrobiologie —
Kommissarischer Direktor: Professor Dr. med. K. Botzenhart

UNTERSUCHUNGEN ZUR ISOLIERUNG VON CAMPYLOBACTER FETUS SUBSPEZIES JEJUNI

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard - Karls - Universität
Tübingen

vorgelegt von
SUSAN BRIT KISCHKEL
aus Reutlingen

1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H. Ritter
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. med. U. Ullmann
2. Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. med. R. Müller

---

gedruckt bei H.- J. Köhler · Reprografischer Betrieb · Tübingen

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Einleitung

1.1 Morphologie und Taxonomie von Campylobacter fetus 4

1.2 Aspekte der Campylobacter fetus-Infektionen 5

1.3 Fragestellung der eigenen Untersuchungen 7

1.3.1 Untersuchungen zur Campylobacter-Isolierung 7

1.3.2 Untersuchungen zur Isolierung von C.fetus ss.jejuni aus Faeces 7

2. Material und Methodik

2.1 Verwendete Campylobacter-Stämme 8

2.2 Nährboden und Züchtung 8

2.3 Untersuchungen mit Transportmedien 9

2.4 Untersuchungen mit handelsüblichen Blutkulturmedien 10

2.5 Resistenzverhalten gegenüber Cefoxitin 13

2.6 Untersuchungen zur Campylobacter-Isolierung aus Faeces 14

2.6.1 Methode 1 15

2.6.2 Methode 2 17

2.6.3 Methode 3 17

2.6.4 Methode 4 18

2.6.5 Methode 5 18

Seite

2.7 Ergränzende Untersuchungen 19

2.7.1 Verwendete Campylobacter-Stämme 20

2.7.2 Versuche zur Isolierung von Campylobacter in Reinkultur aus einer Mischpopulation 20

2.7.3 Isolierung von Campylobacter aus Faeces, denen die Bakterien in vitro beigefügt worden waren 22

2.7.4 Untersuchungen mit dem Biophotometer 22

3. E r g e b n i s s e

3.1 Ergebnisse der Untersuchungen mit Transportmedien 25

3.2 Ergebnisse der Untersuchungen mit Blutkulturmedien 27

3.3 Ergebnis der Überprüfung des Resistenzverhaltens von Campylobacter gegenüber Cefoxitin 36

3.4 Ergebnisse der Isolierungsversuche von Campylobacter aus Faecesproben 37

3.5 Ergebnisse der ergänzenden Untersuchungen

3.5.1 Isolierung von Campylobacter aus einer Mischpopulation 40

3.5.2 Ergebnisse der Rückisolierung von Faeces, denen die Bakterien in vitro beigefügt worden waren 42

3.5.3 Ergebnisse der Biophotometeruntersuchungen 42

Seite

4. D i s k u s s i o n

4.1 Besprechung der allgemeinen Untersuchungen zur Campylobacter-Isolierung 53

4.2 Besprechung der Campylobacter-Enteritis 54

5. Z u s a m m e n f a s s u n g 61

6. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s 64

1. Einleitung

1.1 Morphologie und Taxonomie von Campylobacter fetus.
Campylobacter fetus ist ein gramnegatives, sporenloses, anaerobes bis mikroaerophiles, monopolar-monotrich begeißeltes Stäbchenbakterium. Die Länge beträgt 1,5 bis 5,0 µm und die Breite 0,2 bis 0,5 µm (ULLMANN[90]).
Für junge Kulturen sind kommaartige Formen typisch.
Bei Kulturen, die länger als 72 Stunden bebrütet werden, imponieren lange Spiralen und wendelartige Formen.
Bei der Subspezies jejuni (s.u.) werden ab dem fünften Tag auf festen Nährmedien neben dünnen, gekrümmten Stäbchen nicht mehr vermehrungsfähige zu Kokken degenerierte Formen beobachtet (BUTZLER und SKIRROW[16]).

Über die Nomenklatur bestehen noch Unklarheiten.
1963 wurde anstelle des Genusname Vibrio (aufgrund der morphologischen Ähnlichkeit mit Choleravibrionen) von SEBALD und VERON die Bezeichnung Campylobacter eingeführt (ULLMANN[90]).

SMIBERT unterteilt Campylobacter fetus in drei Subspezies: C. fetus ss. intestinalis (nach VERON und CHATELAIN ss. fetus), C. fetus ss. fetus (nach VERON und CHATELAIN ss. veneralis) und C. fetus ss. jejuni (nach VERON und CHATELAIN spp. jejuni/coli). KING belegte die letzte Subspezies mit dem Namen "Related Vibrio" (KARMALI und Mitarb.[50]). BUTZLER (19) unterscheidet C. fetus und C. jejuni.
In der vorliegenden Arbeit werden die Bezeichnungen nach SMIBERT und BUTZLER verwendet.

Die wichtigsten Unterscheidungsmerkmale der verschiedenen Subspezies betreffen das serologische, das biochemische, das Züchtungs- und das epidemiologische

Verhalten.

Tabelle 1: Differenzierung von Campylobacter fetus spp. (nach ULLMANN[89], KARMALI[50]).

	ss.fetus	ss.intestinalis	ss.jejuni
Vermehrung bei 25°C	+	+	ø
Vermehrung bei 37°C	+	+	+
Vermehrung bei 42°C	ø	ø	+
H_2S-Bildung (Bleiacetat)	ø	+	+
Vermehrung bei 1% Glycin	ø	+	+
Vermehrung bei 3,5% NaCl	ø	ø	ø
Katalase	+	+	+
Nitratreduktion	+	+	+

1.2 Aspekte der Campylobacter fetus-Infektionen. Campylobacter fetus ss. fetus hat als Erreger einer venerischen Infektion bei Rindern veterinärmedizinische Bedeutung. Die anderen Varianten verursachen bei Tieren nicht-venerische Infektionen. Rinder, Schafe, Hühner, Hunde, Katzen und Vögel sind häufig mit Campylobacter infiziert (AGUMBAH und OGAA[1], BLASER und Mitarb.[7], CLARK und DUFTY[25], CLARK und MONSBOURGH[24], FIVAZ und Mitarb.[36], MACLAREN und WRIGHT[60], PRESCOTT und KARMALI[69], TEDESCO und Mitarb.[87]).

Die erste Campylobacter fetus-Infektion des Menschen wurde 1947 in Frankreich von VINZENT und Mitarb. beschrieben. Der Erreger wurde anläßlich des septischen

Aborts einer Frau isoliert (ULLMANN[90]). In Veröffentlichungen, die bis in das Jahr 1913 zurückreichen, werden Infektionen durch ein unbekanntes Spirillum beschrieben, dessen Charakteristika mit denen von C. fetus übereinstimmen (ULLMANN[90]).

In den letzten Jahren steigt die Zahl der Campylobacteriosis-Diagnosen beim Menschen. Ursachen sind die zunehmende Kenntnis des Erregers und die verbesserten Isolierungstechniken.

C. fetus ss. intestinalis wird beim Menschen aus Blut isoliert. BUTZLER und SKIRROW (18) erwähnen drei Isolierungen dieses Biotyps aus 22000 Stuhlproben.
Die Infektion mit der Subspezies intestinalis ist meist eine Propfinfektion auf ein bestehendes Grundleiden. Als Grundleiden wurden beschrieben Lebercirrhosen, Diabetes mellitus, Gastrektomien, Cardiopathien, Leukämien, Malignome und postoperative Zustände (DZAU und Mitarb.[32], KRUTCHIK und VELASQUEZ[53], TARGAN und Mitarb.[85], ULLMANN[90], WOZNIAK und Mitarb.[96]).

Im allgemeinen tritt die Krankheit als Septikämie, Endocarditis, Thrombophlebitis und Meningitis auf.

C. fetus ss. jejuni wird aus Faeces isoliert. Das klinische Bild einer ss. jejuni-Infektion gleicht einer Enteritis: Fieber, Diarrhoe, die Faeces teils blutig teils schleimig und Schmerzen im Abdomen. Erbrechen und Dehydratation sind keine führenden Symptome. Begleitsymptome können Muskel- und Gelenkschmerzen, Krämpfe und Delirium sein. Bei Säuglingen und Kleinkindern verläuft die Infektion nicht selten afebril (KARMALI und Mitarb.[50]).
Die erste Enteritiserkrankung in der Bundesrepublik, die durch C. fetus ss. jejuni verursacht worden war,

wurde 1979 von STICHT-GROH und Mitarb. (83) beschrieben.

1.3 Fragestellung der eigenen Untersuchungen.

1.3.1 Untersuchungen zur Campylobacter-Isolierung. Campylobacter sind empfindliche, schwer züchtbare und anspruchsvolle Organismen. Es gilt zu ermitteln, welchen Einfluß die Zeit auf die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien hat, von der Abnahme des Untersuchungsmaterials bis zum Eintreffen im bakteriologischen Laboratorium unter Berücksichtigung der verwendeten Transportmedien.

In weiteren Untersuchungen wird geprüft, welche der handelsüblichen Blutkulturmedien für die Campylobacter-Vermehrung geeignet sind.

1.3.2 Es werden Untersuchungen durchgeführt, C. fetus ss. jejuni aus diarrhöischen Stühlen von Säuglingen und Kleinkindern der Tübinger Universitäts-Kinderklinik zu isolieren. Die Anzahl der Stuhlproben wurde durch wenige Faecesproben von Erwachsenen erweitert.

2. Material und Methodik

2.1 Verwendete Campylobacter-Stämme.

1. Campylobacter fetus ss.intestinalis Tgb.Nr. 10160 II
2. Campylobacter fetus ss.intestinalis Tgb.Nr. 377 I

2.2 Nährboden und Züchtung.

Die durch Lyophilisierung gehaltenen Stämme wurden in einer Leberbouillon nach TAROZZI bei 37°C in einem Aerobenbrutschrank inkubiert.
Die mit Fleischwasser- bzw. Fleischextraktbouillon abgefüllten Röhrchen werden mit 3 - 5 erbsengroßen Leberstückchen beschickt. Durch deren reduzierende Eigenschaft eignet sich die Leberbouillon für die Züchtung von Aerobier wie auch Anaerobier, trotz der aeroben Bebrütungsbedingungen.

Das bewachsene Medium ist zunächst diffus getrübt. Bei längerer Inkubationsdauer senkt sich die Bakterienmasse auf Leberstückchen und Röhrchenboden und hebt sich beim Drehen in Schlieren ab. Die Schlieren sind für Campylobacter typisch. Sie können in jedem zur Vermehrung gewählten flüssigen Medium entstehen.

Zur Stammhaltung wurde auf feste Nährmedien ein Tropfen einer bewachsenen Bouillon ausgespatelt und 72 Stunden inkubiert. Anschließend wurde Koloniematerial wieder in flüssige Nährmedien überimpft. Nach BUTZLER empfiehlt sich der Rhythmus flüssig - fest - flüssig - Nährmedium und nicht das Verfahren flüssig - flüssig. Entschieden abzulehnen ist die Reihenfolge fest - fest - Nährboden, da dabei die kokkoiden Formen entstehen, die ihre Beweglichkeit verloren haben und nicht mehr vermehrungsfähig sind.

Feste Nährmedien waren Kochblutagar und Albimi-Koch-

blutagar. Die festen Nährmedien wurden entweder in Anaerobier-Töpfen bebrütet, oder es wurde das Fortner-Verfahren angewandt.

Beim Fortner-Verfahren wurde die eine Hälfte der Nährbodenplatte mit einem sauerstoffverbrauchenden Serratia-Stamm beimpft, die zweite Hälfte mit dem Untersuchungsmaterial. Mit einem Klebeband (Leukoflex, No. 1132, Fa. Beiersdorf) wurden Boden und Deckel der Petri-Schale luftdicht verschlossen. Bei der Anwendung von Antibiotika-Nähragar (s.u.) wurde die Serratia auf einer Blutplatte ausgespatelt, das Untersuchungsmaterial auf dem Antibiotika-Nähragar. Die beiden Petri-Schalen wurden ohne Deckel mit Leukoflex aneinander geklebt.

Albimi-Kochblutagar: Brucella Broth, Cat. No.A - 114, Control No. 016504 / Fa. Albimi Laboratories/N.Y./USA; zugesetzt wurden 1,5 % Agar und 5 % Schafblut.

Verwendete Anaerobier-Töpfe:

GasPak Anaerobic System, disposible hydrogen+carbon dioxide generator envelope, Lot 9042263, manufactures for BBL, division of Becton-Dickinson & Co./Cockeysville/MD 21030/USA.

GasKit Anaerobic System, Code No. BR 38/Fa. Oxoid Ltd/Basingstoke/Hampshire/England.

2.3 Untersuchungen mit Transportmedien.

Verwendete Transportmedien:
1. Port-a-Cul-Tube, 21606/21607, 11 ml, for transport of bacteriological specimens on swabs for in vitro diagnosis use, BBL/USA.

2. Stuart's Transportmedium (mod. nach RINGERTZ); das ist ein Transportmedium, das speziell für empfindliche Bakterien wie Gonokokken, Meningokokken und Anaerobier entwickelt worden ist. (Das Medium wird im Hygiene-Institut hergestellt.)
3. Steriles Reagenzglas.

In je eine 72-Stunden bebrütete flüssige Campylobacterkultur der Stämme 10 160 II und 377 I wurden nacheinander 24 sterile Abstrichtupfer getaucht.
Von den beiden ersten Transportmedien wurden je 8 mit einem getränkten Abstrichtupfer beschickt. Je 8 der mit Campylobacter-Kultur getränkten Watteträger wurden in das sterile Reagenzglas zurückgesteckt. Die insgesamt 48 Tupfer in Medien bzw. Glasröhrchen wurden bei Zimmertemperatur belassen. Nach 6 Stunden, einem Tag, 2, 3, 4, 5, 6 und nach 7 Tagen wurde aus je einem Medium bzw. Glasröhrchen von jedem Stamm der Watteträger entnommen, in eine Leberbouillon übertragen und bei 37°C inkubiert.

Die Vermehrung von Campylobacter wurde durch Trübung und Präparate nachgewiesen.

2.4 Screening handelsüblicher Blutkulturflaschen.
18 verschiedenen Blutkulturmedien von fünf verschiedenen Firmen wurden hinsichtlich der Vermehrungsfähigkeit von Campylobacter überprüft.

Verwendete Blutkulturflaschen:
Fa. La Roche (Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/BRD)

1. Liquoid, Blood Culture Bottle, TSB+Suc, Tryptic

Soy Broth + 10 % Sucrose, Carbon dioxide, 70 ml
Art. 3126

2. Liquoid, Blood Culture Bottle, Tryptic Soy Broth, Carbon dioxide, 70 ml, Art. 3137

3. Liquoid, Blood Culture Bottle, BHI, Brain Heart Infusion, Carbon dioxide, 70 ml, Art. 3161

4. Liquoid, Blood Culture Bottle, Thio, Thioglycolate, Carbon dioxide, 70 ml, Art. 3160

Fa. BioMérieux (Charbonnières-les-Bains/Frankreich)

1. Hémoline, Bouillon Columbia avec Saccharose 10% et SPS 0,025 %, sous pression réduite et CO_2, 100ml
5-256 0

2. Hémoline, Bouillon coeur-cervelle avec SPS 0,025% sous pression rédiute et CO_2, 100 ml, 5-254 0

3. Hémoline, Trypcase diphasique avec SPS 0,025 %, sous oression réduite et CO_2, gelose 25 ml, bouillon 50 ml, 5-250 0

4. Hémoline, Bouillon de Schaedler avec SPS 0,025 % et Vit. K 3, sous pression réduite et CO_2, 5-258 0

Fa. Becton-Dickinson (Rutherford, N.J./USA)

1. Supplement Peptone Broth II, Vacutainer Culture Tube, 45 ml, Lot. No. 8A 344

Fa. Biotest (Frankfurt a. M./BRD)

1. Microgno st-Blutkulturflasche, 50 ml
Charge Nr. 133058

Fa. Fresenius/Institut Pasteur (Bad Homburg v.d.H./BRD)

1. Blood Culture Bottle, with SPS, Columbia Broth with CO_2, 70 - 80 ml, Kat.-Nr. 55.142
2. Blood Culture Bottle, with SPS, Brain Heart Infusion with P.A.B. and CO_2, 70 ml, Kat.-Nr. 55.140
3. Blood Culture Bottle, with SPS, Fluid Thioglycolate Medium with CO_2, 70 ml, Kat.-Nr. 55.146
4. Milieu pré-réduit pour Hémoculture Anaérobie, 100 ml
5. Aérobie Hémoculture Pasteur
6. Anaérobie Hémoculture Pasteur
7. Flacon de Castaneda pour Hémoculture, 50 - 60 ml

Vor Beginn der Versuche wurde von beiden Campylobacter-Stämmen je eine Verdünnungsreihe hergestellt.

Eine 72-Stunden-Kultur war die Stammkultur. Als Verdünnungsmedium diente Sojabouillon, die in Portionen zu 9 ml in Reagenzröhrchen abgefüllt war. Durch Überpipettieren von 1 ml wurden jeweils fünf um den Faktor 1 : 10 fallende Konzentrationsstufen hergestellt.

Von jeder Verdünnungsstufe der beiden Reihen wurden 0,01 ml auf einer Kochblutplatte ausgespatelt und in einem GasPak-Topf bei 37°C 72 Stunden bebrütet.

Von jedem Blutkulturmedium wurden jeweils vier Flaschen mit je einem der beiden Campylobacter-Stämme beimpft. Die eine Hälfte der beimpften Nährsubstrate wurde aerob, die andere anaerob bebrütet:
Von einer 72-Stunden-Kultur des Stammes 10 160 II wurde eine Verdünnung 1:1000 hergestellt. Mit einer sterilen Spritze wurden die Blutkulturmedien durch den desinfizierten Gummistopfen mit 0,01 ml der

Campylobacter-Kultur beimpft. Die Hälfte der Flaschen wurde bei 37°C im Aerobenbrutschrank bebrütet.
Für die anderen Blutkulturmedien wurde ein aerobes Milieu geschaffen. Sterilisierte Stahlkanülen wurden zur Belüftung der Flaschen in die Gummistopfen gesteckt. Die obere breite Öffnung war vor dem Sterilisieren mit Watte gefüllt worden; das Eindringen von Luftkeimen sollte dadurch verhindert werden. Auch diese Flaschen wurden bei 37°C bebrütet.

Von einer 72-Stunden-Kultur des Stammes 377 I wurde eine Verdünnung 1:10 000 hergestellt. Analog dem oben beschriebenen Verfahren, jedoch mit 0,2 ml Campylobacter-Kultur, wurden wiederum insgesamt 72 Blutkulturmedien beimpft und bebrütet.

Vermehrungsnachweis der Bakterien war Trübung der flüssigen Nährsubstrate. Um auch geringes Wachstum nachweisen zu können, wurde jeweils ein Tropfen der Medien auf eine Kochblutplatte ausgespatelt und bebrütet.

2.5 Resistenzverhalten gegenüber Cefoxitin.
Das Resistenzverhalten gegenüber Cefoxitin wurde mit dem Campylobacter-Stamm 10 160 II geprüft.
Die Durchführung erfolgte mit dem Röhrchenverdünnungstest. Als Testmedium diente Leberbouillon. Die Leberstückchen waren zuvor entfernt worden.
In 25 ml Leberbouillon wurden 6,4 ml Cefoxitin gelöst (Sterile 'Mefoxitin' (Sodium Cefoxitin), C-E 925, Fa. Merck & Dohme Research Laboratories, WestPoint, Pa. / USA).
10 Röhrchen wurden mit je 5 ml Leberbouillon gefüllt.

Durch Überpipettieren von 5 ml, begonnen wurde mit der angesetzten Lösung, wurden 10 um den Faktor 1/2 fallende Konzentrationsstufen hergestellt.

Jedes Röhrchen wurde mit 0,1 ml einer 72-Stunden-Campylobacter-Kultur beimpft und bei 37°C 3 Tage inkubiert.

Die Bakterienvermehrung wurde durch Trübung und mikroskopische Präparate nachgewiesen.

2.6 Untersuchungen zur Campylobacter-Isolierung aus Faeces.

Die Stuhlproben für die Versuche waren aus der Universitäts-Kinderklinik Tübingen, einige wenige aus dem Typhuslabor des Hygiene-Instituts der Universität.

Innerhalb eines Zeitraumes von 13 Monaten (23.1.1979 bis 3.3.1980) wurden insgesamt 394 Stuhlproben auf Campylobacter geprüft. 133 der 376 Stuhlproben aus der Kinderklinik waren diarrhöisch; die klinische Diagnose lautete Enteritis. Unter den 18 Faecesproben aus dem Typhuslabor waren 6 diarrhöisch.

Tabelle 2: Altersverteilung bei den Enteritis-Erkrankten

0-14 Tage	>14 Tage-6 Monate	>6 Monate-1 Jahr
11	69	25
>1-5 Jahre	>5-10 Jahre	>10 Jahre
28	2	4

Fortsetzung Tabelle 2: Altersverteilung bei den Patienten ohne Diarrhoe

0-14 Tage	>14 Tage-6 Monate	>6 Monate-1 Jahr
93	126	19
>1-5 Jahre	>5-10 Jahre	>10 Jahre
12	1	4

Die Isolierungsversuche wurden mit vier verschiedenen Methoden durchgeführt.

2.6.1 Für Methode 1 wurden 119 Stuhlproben verwendet; 13 waren diarrhöisch.
Das Prinzip beruhte auf der Vermehrung der Bakterienflora der Faeces in einem flüssigen Nährsubstrat. Als Medium diente Thioglykolatsubstrat mit 0,15 % Agarzusatz. Verschiedene Antibiotika wurden dem Medium zur Unterdrückung der Vermehrung unerwünschter Bakterien zugesetzt.
Die erste Antibiotikazusammenstellung wurde von SKIRROW zur Campylobacter-Isolierung entwickelt:
1. Vancomycin (V) 10 mg/l 2. Polymyxin (P) 2,5IU/ml
3. Trimethoprim (T) 5 mg/l
(VPT-Medium).
Diese Mischung ist im Handel erhältlich: Oxoid freeze dried antibiotic supplement for selection of campylobacter fetus (Skirrow's medium), Code SR 69, Oxoid Ltd., Basingstoke/England.

Die zweite Antibiotikazusammenstellung wurde durch

Cefoxitin (C) 16 mg/l ergänzt (VPTC-Medium).

Verwendete Antibiotika:

Vancomycin, No V - 2002, Hydrochlorid SIGMA, Chemical Company, St. Louis/USA.

Polymyxin, Polymyxin-B-Sulfat, 500 000 E/50 mg, Reg.Nr. P 213, Fa. Pfizer GmbH, Karlsruhe/BRD.

Trimethoprim, OP. 253624, Fa. Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/BRD.

Cefoxitin, Sterile 'Mefoxitin', (Sodium Cefoxitin), C-E 925, Fa. Merck, Sharp & Dohme Research Laboratories, West Point, Pa./USA.

Das Thioglykolatsubstrat ist unter Thioglykolat Medium VSD, Code CM 173 bei der Fa. Oxoid erhältlich.

Die Antibiotika-Thioglykolatmedien wurden in Portionen zu 10-12 ml in Reagenzröhrchen abgefüllt.

Eine kleine, knapp erbsengroße Menge jeder Stuhlprobe wurde sowohl im VPT-Medium wie auch im VPTC-Medium 72 Stunden bei 37°C inkubiert. Die Proben waren so tief wie möglich einzuimpfen, um ein anaerobes Milieu zu gewährleisten. Das Eindringen von Luftsauerstoff in das Substrat war an der Verfärbung von gelb nach rot zu erkennen, die sich kontinuierlich von oben nach unten ausbreitete.

Nach der Inkubation wurden je drei verschiedene feste Nährböden (Kochbluagar, Albimi-Kochblut- und Endoagar) mit je einem Tropfen aus den beiden Thioglykolatmedien beimpft.
Kochblut- und Endoagar wurden aerob für weitere 72 Stunden bebrütet. Albimi-Kochblutagar wurde mit dem Fortner-Verfahren anaerob inkubiert. Ein mit 30 mcg

beschicktes Cefoxitin-Testplättchen wurde zur Verbesserung der Selektion auf die beimpften Kochblut- und Albimi-Kochblutagarplatten gelegt (Cefoxitin 30 mcg, Lot 808002, Fa. Becton-Dickinson & Co.,Cockeysville, MD 21030 USA).
Nach dem Bebrüten wurden die Kolonien lichtmikroskopisch auf Campylobacter geprüft.

Die Gesamtzahl der ausgewerteten Platten belief sich auf 714.

2.6.2 Methode 2 wurde mit 175 Stuhlproben durchgeführt; 70 waren diarrhöisch.
Bei diesem Verfahren wurde mit vier Anreicherungsmedien in gleicher Weise wie oben beschrieben gearbeitet. Den neu hinzugenommenen Antibiotikamischungen wurde zu Vancomycin, Polymyxin, Trimethoprim und Cefoxitin jeweils Bacitracin (B) 25 IU/ml und Actidion (A) 0,05mg/ml beigefügt.
Verwendete Abkürzungen: VPT-, VPTC-, VPTBA- und VPTCBA-Medium.

Verwendete Substanzen:

Bacitracin, SERVA, feinbiochemica Heidelberg/BRD.

Actidione, rein, 500 mg, 10 700, feinbiochemica Heidelberg/BRD.

Die Gesamtzahl der ausgewerteten Nährböden belief sich auf 2 100.

2.6.3 Methode 3. Drei Faecesproben von den 10, die für diese Methode zur Verfügung standen, waren diarrhöisch. Aufgrund der Kenntnis, daß C. fetus ss. jejuni bei 42°C

besser vermehrungsfähig ist, als bei 37°C, im Gegensatz der übrigen Campylobacter-Subspezies und vielen Bakterien der Faecesmischflora, wurde nun bei 42°C inkubiert, um so die Selektivität weiter zu erhöhen. Die festen beimpften Nährböden wurden bei 37°C bebrütet, da Serratia bei 42°C nicht vermehrungsfähig ist.

Die Zahl der ausgewerteten Nährböden belief sich auf 120.

2.6.4 Methode 4 wurde mit 29 Stuhlproben durchgeführt; 20 waren diarrhöisch.
Auf die Vermehrung der Bakterien in flüssigen Antibiotika-Nährmedien wurde verzichtet. Es wurden Nährböden mit Antibiotika hergestellt. Als Grundlage diente Albimi-Kochblutagar, dem 5 % Schafblut zugesetzt worden war. Die Antibiotika waren auch für die festen Agarplatten Vancomycin 10 mg/l, Polymyxin 2,5 IU/ml und Trimethoprim 5 mg/l (Skirrow's medium).

Die Stuhlproben wurden mit wenig physiologischer Kochsalzlösung geschmeidig gerieben. Die Agarplatten wurden mit einer Öse strichförmig, fraktioniert beimpft, um so auch einzelne Kolonien erkennen zu können.
Ein mit 30 mcg beschicktes Cefoxitin-Testplättchen auf jeder beimpften Platte erhöhte die Selektivität. Die Nähragarplatten wurden im Anaerobier-Topf bei 42°C 72 Stunden bebrütet.

Die Gesamtzahl der ausgewerteten Nährböden belief sich auf 29.

2.6.5 Methode 5. Für die fünfte Methode standen 61 Faecesproben zur Verfügung. 33 waren von Patienten,

die unter Diarrhoe litten. 18 Faecesproben stammten aus dem Typhuslabor des Hygiene-Instituts. Diese Methode unterschied sich von der vorhergehenden durch die Wahl der Antibiotikazusätze zum Nähragar. Skirrow's Medium wurde durch Butzler's Medium ersetzt. Die Versuche wurden mit der im Handel erhältlichen Mischung durchgeführt (Freeze dried antibiotic supplement for selective isolation of Campylobacter fetus (BUTZLER), Code SR 85, Batch No. 45580, Fa. Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire/England).
Jede abgefüllte Einheit ist für 500 ml Nährgrundlage bemessen und enthält folgende Antibiotika:

1.	Bacitracin	12,500 units
2.	Cycloheximide (Actidione)	25 mg
3.	Colistine Sulphate	5,000 units
4.	Cephazolin Sodium	7,5 mg
5.	Novobiocin	2,5 mg

Als Nährgrundlage diente Albimi-Kochblutagar mit 5% Schafblut.
Die Stuhlproben wurden mit physiologischer Kochsalzlösung verrieben und die Platten fraktioniert beimpft. Die Nährböden wurden mit einem 30 -mcg-Cefoxitin-Testplättchen beschickt.
Für jede Stuhlprobe wurden zwei Platten beimpft. Die eine wurde im Anaerobier-Topf bei 42°C bebrütet, die zweite mit dem Fortner-Verfahren bei 37°C. Die Bebrütungsdauer betrug 72 Stunden.

Für dieses Verfahren wurden 122 Nährböden verwendet.

2.7 Zur Ergänzung der Charakterisierung von Campylobacter fetus ss. jejuni und zur Prüfung der Selektivi-

tät der oben beschriebenen Isolierungsverfahren wurden Untersuchungen durchgeführt.

2.7.1 Die verwendeten Campylobacter-Stämme waren von BUTZLER und Mitarb. (Brüssel/Belgien) aus menschlichen Faeces und Blut isoliert worden. Jeder Stamm wurde lyophilisiert bzw. in ca. 2 ml TVLS-Medium verschickt.

1.	Campylobacter jejuni /Faeces	Tgb.-Nr.	O1
2.	Campylobacter jejuni /Faeces	Tgb.-Nr.	L1
3.	Campylobacter jejuni /Faeces	Tgb.-Nr.	Z2
4.	Campylobacter jejuni /Faeces	Tgb.-Nr.	E6
5.	Campylobacter jejuni /Faeces	Tgb.-Nr.	A3
6.	Campylobacter jejuni /Faeces	Tgb.-Nr.	VH
7.	Campylobacter jejuni /Faeces	Tgb.-Nr.	VDP
8.	Campylobacter fetus /Blood	Tgb.-Nr.	V 33
9.	Campylobacter fetus /Blood	Tgb.-Nr.	V 34
10.	Campylobacter fetus /Blood	Tgb.-Nr.	V 35

2.7.2 Versuche zur Isolierung von Campylobacter in Reinkultur aus einer Mischpopulation.
Da die Campylobacter-Stämme aus Brüssel nicht frei von anderen Bakterienarten waren, wurde versucht, die Vermehrung der konkomitierenden Bakterien zu unterdrücken und Campylobacter zu selektieren.

Die lyophilisierten Stämme A 3, Z 2, O 1 und E 6 wurden in Leberbouillon bei 37°C gezüchtet. Je 1 ml der bewachsenen Bouillon wurde in die vier Antibiotika-

Thioglykolatmedien (VPT-, VPTC-, VPTBA- und VPTCBA-Medium) geimpft. Nach einer Inkubationsdauer von 72 Stunden bei 37°C wurden Albimi-Kochblutplatten mit je einem Tropfen bespatelt und für weitere 3 Tage bebrütet.

Ein zweiter Isolierungsversuch wurde mit einer Verdünnungsreihe durchgeführt:
Je ein Tropfen der mit den Stämmen A 3, Z 2 und E 6 bewachsenen Leberbouillon wurden auf einer Albimi-Kochblutplatte ausgestrichen; jeweils mit demselben Spatel wurden nacheinander sechs weitere Agarplatten beimpft. Ein 30-mcg-Cefoxitin-Testplättchen auf der Plattenmitte unterstützte die Selektivität.

Der Nachweis, ob Campylobacter wieder in Reinkultur gewonnen werden konnte, wurde anhand der Ergebnisse der Prüfung der Stoffwechselleistungen erbracht.

Durchgeführte Stoffwechselleistungen (nach ULLMANN[90]):

Der Katalase -Nachweis erfolgte als Objektträgerreaktion, indem Koloniematerial in 3 bis 4 Tropfen 3%iger H_2O_2 (Katalase-Reagens) eingerieben wurde.

Die Schwefelwasserstoffbildung wurde durch Beimpfen von Kliglernährmedien geprüft. Um auch geringste Spuren von Schwefelwasserstoff nachweisen zu können, wurde eine Thioglykolatbouillon mit 0,02% Cystein versetzt. Ein mit gesättigter Bleiacetatlösung getränkter und getrockneter Fließpapierstreifen wurde zwischen Röhrchenwand und Stopfen geklemmt.

Der Nachweis der Vermehrung in salzhaltigem Milieu erfolgte in Thioglykolatsubstrat, dem 3,5% NaCl zugesetzt war.

Der Nachweis der Vermehrung in glycinhaltigem Milieu

erfolgte in Thioglykolatsubstrat, dem 1% Glycin zugesetzt war.

Die Überprüfung der Nitratreduktion erfolgte in Thioglykolatsubstrat mit einem Zusatz von 0,1% Kaliumnitrat; nach 96-stündiger Bebrütung wurde tropfenweise Griess-Reagens (Dimethyl-α-naphtylamin) zugesetzt.

Die Temperaturempfindlichkeit wurde bei 37°C und bei 42°C geprüft. Die Prüfung bei 25°C wurde nicht durchgeführt.

2.7.3 Isolierung von Campylobacter aus Stuhlproben, denen die Bakterien in vitro beigefügt worden waren. Stuhlmaterial wurde mit wenig flüssiger C. jejuni E6-Kultur geschmeidig gerieben. Zwei BUTZLER-Selektivnährböden wurden fraktioniert beimpft und mit einem 30-mcg-Cefoxitin-Testplättchen beschickt. Zur Wachstumskontrolle wurde in die Mitte der Nährböden die reine Campylobacter-Kultur strichförmig aufgetragen. Die eine Platte wurde mit dem Fortner-Verfahren bei 37°C und die andere im Anaerobier-Topf bei 42°C 72 Stunden bebrütet.

Als Kontrolle wurden auf dieselbe Weise mit dem gleichen Faecesmaterial, ohne hinzugefügten Campylobacter zwei Differenzierungsnährböden beimpft und bebrütet.

Die Prüfung der isolierten Campylobacter erfolgte durch Präparate. Der Versuch wurde zweimal durchgeführt.

2.7.4 Untersuchungen mit dem Biophotometer.

Verwendeter Campylobacter-Stamm:
C. jejuni E 6

Ein sich schnell vermehrender Anaerobier diente als Wachstumskontrolle:
Bacteroides fragilis

Verwendetes Gerät:
Biolog II der Firma Jouan, Paris / Frankreich

Das Prinzip ist die Messung der optischen Dichte einer sich vermehrenden Bakterienkultur. Beim Biolog II wird die optische Dichte von 6 Küvetten mit 10 ml Inhalt nacheinander alle 20 Sekunden gemessen und von einem 6-Kanal-Punktschreiber mit einer Papiergeschwindigkeit von 20 mm pro Stunde registriert. Der Lichtweg einer Küvette beträgt 3 cm. Ein Magnetschwinger sorgt für die gleichmäßige Durchmischung von Bakterien und Zusätzen.
Die Schüttelfrequenz war auf 78 pro Minute eingestellt.

Mit dieser Untersuchung wurde der Vermehrungsverlauf von C. jejuni in verschiedenen flüssigen Nährsubstraten geprüft.

Die Küvetten waren mit je 8 ml der folgenden Nährmedien gefüllt.

Küvette 1: Thioglykolatsubstrat

Küvette 2: Sojabouillon

Küvette 3: Antibiotika-Thioglykolatsubstrat (Skirrow's Antibiotikamischung (VPT-Medium) + 0,15% Agarzusatz)

Küvette 4: Leberbouillon (die Leberstückchen waren entfernt)

Küvette 5: p-Aminobenzoesäure (Mischungsverhältnis: 50 mg p-Aminobenzoesäure auf 1 Liter Peptonbouillon)

Küvette 6: Leerkontrolle bzw. Vermehrungskontrolle (VK): Bacteroides fragilis in p-Aminobenzoesäure

Die Küvetten 1 bis 5 wurden mit je 0,1 ml einer 72 Stunden bebrüteten Campylobacter-Kultur beimpft. Beim ersten Versuch wurde Küvette 6 nicht beimpft; bei den folgenden drei wurde sie mit 0,1 ml der Bacteroides-Kultur versetzt.

Die Küvetten wurden mit Stickstoff begast, um ein anaerobes bis mikroaerophiles Milieu zu gewährleisten: Ein Verbindungsschlauch wurde an das Photometer angeschlossen und unter schwachem Druck N_2 über die Küvetten geleitet. An der gegenüberliegenden Seite konnte das Gas über einen kurzen Gummischlauch in einen Wasserbehälter entweichen.

3. Ergebnisse

3.1 Ergebnisse der Untersuchungen mit Transportmedien.

Nach 72-stündiger Bebrütung der Watteträger in Leberbouillon galt als Kriterium der Vermehrung eine diffuse Trübung des Substrats.
Keines der Medien trübte sich vor Ablauf der ersten 48 Stunden. Da Campylobacter eine lange Generationszeit hat (für eine mit bloßem Auge sichtbare Vermehrung werden wenigstens 2 Tage gefordert), durfte mit hinreichender Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß keine Kultur mit unerwünschten Bakterien kontaminiert war.

In allen 48 Röhrchen wurde eine Trübung beobachtet.

Das jeweils angefertigte Präparat zeigte die für Campylobacter typische Morphologie: kleine gekrümmte oder spiralig geformte gramnegative Stäbchenbakterien.

C. fetus ss. intestinalis läßt sich noch zur Vermehrung bringen, nachdem er zwischen 6 Stunden und sieben Tagen in einem Transportmedium oder am Abstrichtupfer im aeroben Milieu eines Reagenzgläschens bei Zimmertemperatur belassen wurde.

Der geringe Einfluß der Zeitspanne und der äußeren Milieufaktoren auf die Vermehrunhsfähigkeit von C. fetus ss. intestinalis läßt die Schlußfolgerung zu, daß es sich um ein unempfindliches Bakterium handelt.

Der Versuch ist dadurch begünstigt worden, daß Campylobacter in Reinkultur vorlag.

Tabelle 3: Vermehrungsfähigkeit (+) zweier C.fetus ss. intestinalis-Stämme nach einer definierten Verweildauer in verschiedenen Transportmedien

Zeitspanne	Transportmedium	Stamm 10160 II	Stamm 377 I
6 Stunden	Port-a-Cul-Tube	+	+
	Stuart's Medium	+	+
	Reagenzglas	+	+
1 Tag	Port-a-Cul-Tube	+	+
	Stuart's Medium	+	+
	Reagenzglas	+	+
2 Tage	Port-a-Cul-Tube	+	+
	Stuart's Medium	+	+
	Reagenzglas	+	+
3 Tage	Port-a-Cul-Tube	+	+
	Stuart's Medium	+	+
	Reagenzglas	+	+
4 Tage	Port-a-Cul-Tube	+	+
	Stuart's Medium	+	+
	Reagenzglas	+	+
5 Tage	Port-a-Cul-Tube	+	+
	Stuart's Medium	+	+
	Reagenzglas	+	+
6 Tage	Port-a-Cul-Tube	+	+
	Stuart's Medium	+	+
	Reagenzglas	+	+

Fortsetzung der Tabelle 3:

Zeitspanne	Transportmedium	Stamm 10160 II	Stamm 377 I
7 Tage	Port-a-Cul-Tube	+	+
	Stuart's Medium	+	+
	Reagenzglas	+	+

3.2 Ergebnisse der Untersuchungen mit Blutkulturmedien.

Ergebnis der Keimzählung des Campylobacter-Stammes 10 160 II:

Verdünnungsstufe	Anzahl der Kolonien auf Albimi-Kochblutagar
1. Stammkultur	Bakterienrasen
2. 1 : 10	>200
3. 1 : 100	56
4. 1 : 1 000	4
5. 1 : 10 000	0
6. 1 : 100 000	2

Ergebnis der Keimzählung des Campylobacter-Stammes 377 I:

Verdünnungsstufe	Anzahl der Kolonien auf Albimi-Kochblutagar
1. Stammkultur	Bakterienrasen
2. 1 : 10	Bakterienrasen
3. 1 : 100	200
4. 1 : 1 000	41
5. 1 : 10 000	10
6. 1 : 100 000	2

Vom Stamm 10 160 II wurden 0,01 ml der Verdünnung 1 : 1 000 in je eine Blutkulturflasche eingeimpft. Das waren etwa 4 Bakterien pro Medium.

Vom Stamm 377 I wurden mit 0,2 ml der Verdünnung 1 : 10 000 jeweils etwa 200 Bakterien inokuliert.

Kriterium der Vermehrung war Trübung des Nährsubstrats. Um auch geringste Vermehrung feststellen zu können, bei diskreter, nicht mit bloßem Auge sichtbarer Trübung, wurde ein Tropfen jeder beimpften Blutkultur auf Albimi-Kochblutagar ausgespatelt und im Anaerobier-Topf bei 37°C bebrütet.

Auch für diese Versuche war die Feststellung wichtig, daß sich die flüssigen Medien nicht vor Ablauf der ersten 24 bis 48 Stunden trübten. Campylobacter wird in einer Mischpopulation erfahrungsgemäß von sich schneller vermehrenden Bakterien überwuchert; wären solche vorhanden gewesen, hätten sie schon während des

ersten Bebrütungstages eine Trübung verursacht.

Fa. La Roche

Für die Campylobacter-Vermehrung ist Liquoid, TSB+Suc ungeeignet. Nur Stamm 10 160 II aus einer anaerob bebrüteten Flasche bildete auf festem Nährmedium Kolonien bei nicht erkennbarer Trübung des flüssigen Substrates.

Stamm 10 160 II war in Liquoid, TSB nicht vermehrungsfähig. Stamm 377 I bildete Kolonien auf Albimi-Kochblutagar ohne Trübung des flüssigen Mediums. Eine mit Stamm 377 I aerob bebrütete Blutkultur trübte sich erst nach 3 Wochen.

In Liquoid, BHI vermehrte sich Campylobacter am besten. Nach wenigen Tagen zeigte sich in den beimpften Medien eine diffuse Trübung. Die zunächst homogene Trübung der mit Stamm 10 160 II beimpften Blutkulturen, setzte sich bald als beeindruckende, dicke Schlieren auf dem Flaschenboden ab. Die Kolonien auf festem Nähragar waren größer als bei den anderen Subkulturen, und das mikroskopische Präparat zeigte kräftigere und größere Campylobacter, als sie bei den übrigen Präparaten zu sehen waren.

Auch in Liquoid, Thio vermehrte sich Campylobacter besonders gut.

In Liquoid, Col war nur Stamm 377 I vermehrungsfähig. Das aerob bebrütete Medium war nach 3 Wochen getrübt. Unter anaeroben Bedingungen hatte sich Campylobacter nicht sichtbar im flüssigen Medium vermehrt und bildete nur spärlich Kolonien auf festem Agar.

Fa. BioMérieux

In Hémoline Col + Sac-Medium vermehrte sich Campylobacter 377 I bei anaerober Bebrütung. Nach aerober Inkubation bildeten sich auf festem Nähragar Kolonien.

Hémoline Bouillon coeur-cervelle war für die Züchtung von Stamm 10 160 II ungeeignet. Die aerob mit Stamm 377 I inkubierten Blutkulturmedien zeigten erst nach 3 Wochen eine diffuse Trübung. Kolonienbildung auf Nähragar erfolgte in jedem Fall.

Beide Campylobacter-Stämme vermehrten sich in Trypcase diphasique, mit und ohne Sauerstoffzufuhr.

In Bouillon de Schaedler vermehrte sich Campylobacter nicht sichtbar und auf festem Nährmedium nur spärlich.

Fa. Becton-Dickinson

Stamm 377 I vermehrte sich in Supplement Peptone Broth II besser als Stamm 10 160 II.

Fa. Biotest

In einem Fall nach anaerober Bebrütung mit Stamm 377 I trübte sich eine Micrognost-Blutkulturflasche.

Fa. Fresenius

Stamm 377 I bildete nach aerobem Bebrüten in Aérobie Hémoculture Pasteur spärlich Kolonien auf Nähragar. Die Bouillon blieben alle klar.

Campylobacter beider Stämme trübten Fluid Thioglycolate sowie Anaérobie Hémoculture Pasteur und bildeten Kolonien auf Agar.

Campylobacter 10 160 II vermehrte sich in Columbia Broth und bildete Kolonien. Auch Campylobacter 377 I konnte in Columbia Broth gezüchtet werden, aber die Koloniebildung war geringer.

Brain-Heart-Infusion genügte den Anforderungen zur Züchtung von Campylobacter in keinem Fall.

Campylobacter konnte sich in Milieu pré-réduit nicht vermehren. Kein Substrat trübte sich. Nur Stamm 377 I bildete auf festem Nährboden Kolonien.

Die Prüfung der Flacon de Castaneda führte zu geringer Kolonienbildung von Campylobacter 377 I bei nur schwacher Trübung des anaerob bebrüteten flüssigen Mediums.

Tabelle 4.1: Vermehrungsnachweis von C.fetus ss. intestinalis Stamm 10 160 II in verschiedenen Blutkulturmedien. In Klammern ist die Zeit angegeben, ab wann Trübung sichtbar wurde. Keine Trübung (Ø), Trübung (+) bzw. (++).

		Anaerobe Bebrütung		Aerobe Bebrütung	
		Trübung	Kolonien-bildung	Trübung	Kolonien-bildung
La Roche					
TSB + Suc	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	+	Ø	Ø
TSB	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
BHI	1.	++ (4d)	++	+ (6d)	+
	2.	++ (4d)	++	+ (6d)	+

Fortsetzung Tabelle 4.1:

		Anaerobe Bebrütung		Aerobe Bebrütung	
		Trübung	Kolonien-bildung	Trübung	Kolonien-bildung
Thio	1.	+ (4d)	++	+ (6d)	+
	2.	+ (4d)	++	+ (6d)	+
Col	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
BioMérieux					
Hémoline Col + Sac	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
Hémoline B. coeur-cervelle	1.	Ø	+	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
Trypcase diphasique	1.	+ (8d)	++	+ (3d)	+
	2.	+ (8d)	++	+ (3d)	+
Bouillon de Schaedler	1.	Ø	+	Ø	+
	2.	Ø	+	Ø	Ø
Becton-Dickinson					
Supplement Peptone Broth II	1.	+ (8d)	+	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
Biotest					
Microgn0st Blutkultur	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø

Fortsetzung Tabelle 4.1:

		Anaerobe Bebrütung		Aerobe Bebrütung	
		Trübung	Kolonien-bildung	Trübung	Kolonien-bildung
Fresenius					
Columbia Broth	1.	+ (4d)	+	+ (3d)	+
	2.	+ (4d)	+	+ (3d)	+
Brain-Heart-Infusion	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
Fluid Thio-glycolate Medium	1.	+ (4d)	++	+ (6d)	+
	2.	+ (4d)	++	+ (6d)	+
Milieu pré-réduit	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
Aérobie Hémoculture	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
Anaérobie Hémoculture	1.	+ (4d)	++	+ (3d)	+
	2.	+ (4d)	++	+ (3d)	+
Flacon de Castaneda	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø

Tabelle 4.2: Vermehrungsnachweis von C.fetus ss. intestinalis Stamm 377 I in verschiedenen Blutkulturmedien. In Klammern ist die Zeit angegeben, ab wann Trübung sichtbar wurde. Keine Trübung (Ø), Trübung (+) bzw. (++).

		Anaerobe Bebrütung		Aerobe Bebrütung	
		Trübung	Kolonien-bildung	Trübung	Kolonien-bildung
La Roche					
TSB + Suc	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
TSB	1.	Ø	+	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	+(3Wo)	+
BHI	1.	+ (3d)	+	+ (5d)	+
	2.	+ (3d)	+	+ (5d)	+
Thio	1.	+ (3d)	+	+ (3d)	+
	2.	+ (3d)	+	+ (3d)	+
Col	1.	Ø	+	+(3Wo)	+
	2.	Ø	+	+(3Wo)	+
BioMérieux					
Hémoline Col + Sac	1.	+(3Wo)	+	Ø	+
	2.	Ø	Ø	Ø	+
Hémoline B. coeur-cervelle	1.	Ø	(+)	+(3Wo)	(+)
	2.	Ø	(+)	+(3Wo)	(+)
Trypcase diphasique	1.	+ (3d)	+	+ (3d)	+
	2.	+ (3d)	+	+ (3d)	+

Fortsetzung Tabelle 4.2:

		Anaerobe Bebrütung		Aerobe Bebrütung	
		Trübung	Kolonien-bildung	Trübung	Kolonien-bildung
Bouillon de Schaedler	1.	Ø	+	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
Becton-Dickinson					
Supplement Peptone Broth II	1.	(+)(6d)	(+)	+ (6d)	(+)
	2.	Ø	(+)	+ (6d)	(+)
Biotest					
Micrognost Blutkultur	1.	+ (3d)	+	Ø	Ø
	2.	Ø	Ø	Ø	Ø
Fresenius					
Columbia Broth	1.	+ (3d)	+	+ (3d)	+
	2.	Ø	Ø	+ (3d)	+
Brain-Heart-Infusion	1.	Ø	Ø	Ø	Ø
	2.	Ø	+	Ø	Ø
Fluid Thioglycolate Medium	1.	+ (3d)	+	+ (3d)	+
	2.	+ (3d)	+	+ (3d)	+
Milieu pré-réduit	1.	Ø	Ø	Ø	+
	2.	Ø	Ø	Ø	+
Aérobie Hémoculture	1.	Ø	Ø	Ø	+
	2.	Ø	Ø	Ø	+

Fortsetzung Tabelle 4.2:

		Anaerobe Bebrütung		Aerobe Bebrütung	
		Trübung	Kolonien-bildung	Trübung	Kolonien-bildung
Anaérobie Hémoculture	1.	+ (6d)	+	+ (6d)	+
	2.	+ (6d)	+	+ (6d)	+
Flacon de Castaneda	1.	Ø	+	Ø	(+)
	2.	Ø	+	Ø	+

3.3 Ergebnis der Überprüfung des Resistenzverhaltens von C. fetus ss. intestinalis Stamm 10 160 II gegenüber Cefoxitin.

Die Überprüfung der Empfindlichkeit gegenüber Cefoxitin erbrachte eine minimale Hemmkonzentration, die zwischen 128 mg/l und 64 mg/l liegt. Dies beweist, daß Cefoxitin als selektierendes Antibiotikum einem Differenzierungsnährboden für die Isolierung von Campylobacter zugegeben werden kann.

Tabelle 5: Resistenzverhalten von C. fetus ss. intestinalis Stamm 10 160 II im Röhrchenverdünnungstest. Empfindlich (Ø), resistent (+) bzw.(++)

Konzentrationsstufe	Zugesetzte Menge Cefoxitin	Trübung bzw. Empfindlichkeit
R 1	1,28 mg (128 mg/l)	Ø
R 2	0,64 mg (64 mg/l)	+
R 3	0,32 mg (32 mg/l)	+
R 4	0,16 mg (16 mg/l)	++
R 5	0,08 mg (8 mg/l)	++

Fortsetzung Tabelle 5:

Konzentrationsstufe	Zugesetzte Menge Cefoxitin	Trübung bzw. Empfindlichkeit
R 6	0, 04 mg (4 mg/l)	++
R 7	0, 02 mg (2 mg/l)	++
R 8	0, 01 mg (1 mg/l)	++
R 9	0,005 mg (0,5 mg/l)	++
R 10	0,0025mg (0,25mg/l)	++

3.4 Ergebnisse der Isolierungsversuche von C. fetus ss. jejuni aus Faecesproben.

Aus keiner der 139 diarrhöischen und 255 nicht-diarrhöischen Stuhlproben konnte Campylobacter isoliert werden.

Die Isolierungsrate von Campylobacter aus Stuhlproben gesunder Probanden wird von BLASER und Mitarb. (7) mit 0 - 1,3% angegeben. Bei den eigenen 255 untersuchten Proben hätte diese Rate höchstens 3 Isolierungen entsprochen.

Fraglich ist, warum aus den diarrhöischen Faecesproben eine Campylobacter-Isolierung nicht gelang. Die Isolierungsrate wird in der Literatur mit durchschnittlich 3 - 8% angegeben (7). Demnach hätten von den 139 untersuchten Proben 4 bis 11 C. fetus ss. jejuni isoliert werden können.

Bei der Anreicherung der Faecesbakterien in flüssigem

Thioglykolatsubstrat vermehrten sich aerobe und anaerobe Bakterien gleichermaßen. Die zugegebenen Antibiotika brachten nicht den erhofften Erfolg in der Unterdrückung der fäkalen Mischflora.
Die Bakterienvermehrung, erkennbar an der Dichte der Trübung, war je nach Antibiotikazusätzen verschieden. Auch durch die Inkubation bei 42°C wurde die Vermehrung erheblich eingeschränkt. Einige der Medien blieben klar.

Zum Beimpfen der drei Nährböden wurde mit einer Öse Material aus den tieferen Schichten der Bouillon entnommen, denn Campylobacter sammelt sich in einem flüssigen Medium, wenn eine bestimmte Bakteriendichte erreicht ist, bevorzugt am Boden des Röhrchens an.
Es war nicht immer möglich, mit der Öse so tief wie nötig zu gelangen, ohne massenhaft Bakterien mitzuschleppen, die sich in höher gelegenen Schichten angesammelt hatten und sicher keine Campylobacter waren.
Das Absaugen dieser oft schleimigen Bakterienmassen mit einer Spritze war nur in beschränktem Umfang möglich. Die Kanülen verstopften sehr schnell.
Daher wurden die Nährböden mit vielen Bakterienspezies bespatelt und die Selektion von Campylobacter erheblich erschwert.

Nach BUTZLER (19) bildet Campylobacter auf festem Nähragar unterschiedlich gestaltete Kolonien. Sie sind in der Regel glatt und klein, rund, 1 - 2 mm im Durchmesser, gräulich und konvex. Auf frischem und feuchtem Medium zeigen die Kolonien einen schwärmenden Effekt. Auch sehr große, unregelmäßige Kolonien sind zu beobachten. Nicht selten weisen die Kolonien im Zentrum einen kleinen erhabenen Punkt auf.
Jede auf Campylobacter verdächtige Kolonie wurde geprüft: Ein nach Gram gefärbtes Präparat wurde ange-

ferttigt und ein wenig Koloniematerial in eine Leberbouillon eingerieben.
Präparat und Trübung der Bouillon bewiesen nicht das Vorliegen von Campylobacter.

Bis zur Diagnosestellung dauerte das Verfahren Anreichern in flüssigem, selektivierendem Medium und anschließendem Ausspateln auf feste Agarplatten 6 Tage. Für ein Routinelabor dürfte dieses Vorgehen zu langwierig und umständlich sein. Werden die Stuhlproben ohne vorheriges Anreichern in flüssigem Medium sogleich auf feste Nährböden aufgetragen, liegt das Ergebnis nach 2 bis 3 Tagen vor.
Ist eine Diarrhoe durch Campylobacter verursacht, so sind vermutlich reichlich Bakterien in den Faeces vorhanden, so daß sich genügend Kolonien auf Nährböden für eine Diagnosestellung bilden könnten.
Auch mikroskopische Präparate Campylobacter-infizierter Faeces lassen die Bakterien erkennen, solange die Proben nur wenige Stunden alt sind (BUTZLER und SKIRROW[18]).

Mit der Verwendung von SKIRROW-VPT-Medium und Inkubation bei 42°C konnte die Vermehrung der Faecesbakterien erheblich reduziert werden. Es bildeten sich keine Bakterienrasen mehr, sondern abgrenzbare, einzeln stehende Kolonien. Campylobacter konnte nicht isoliert werden.
Aus anfänglicher Unkenntnis wurde bei der Herstellung von SKIRROW's Medium lysiertes Hammelblut anstelle des obligatorischen Pferdeblutes verwendet. Pferdeblut ist erforderlich, um die Neutralisation von Trimethoprim-Antagonisten sicherzustellen, was mit Hammel- oder Schafblut nicht erreicht wird. Es ist denkbar, daß durch

den Wegfall der Trimethoprim-Wirkung die Selektion beeinträchtigt wurde (BUTZLER und SKIRROW[18]).

Die beimpften BUTZLER-Selektiv-Nährböden wurden parallel bei 37°C und 42°C bebrütet. Die Kolonienbildung auf den 37°C-Platten war nur spärlich, die bei 42°C bebrüteten Agarböden blieben in 75 % der Fälle steril.

3.5 Ergebnisse der ergänzenden Untersuchungen.

3.5.1 Ergebnis der Isolierung von Campylobacter aus einer Mischpopulation.

Von den von BUTZLER und Mitarb. isolierten Stämmen konnte von den flüssig aufbewahrten Kulturen nur C. fetus V 35 gezüchtet werden.

Die lyophilisierten Stämme A 3, Z 2, O 1 und E 6 wurden in Leberbouillon gezüchtet. Alle trübten sich während der ersten 24 Stunden. Der Verdacht einer Kontamination lag nahe. Die Präparate zeigten grampositive Stäbchen und Kokken. Im Präparat des Stammes E 6 konnte aufgrund seiner typischen Morphologie auch Campylobacter identifiziert werden.

Die Stämme Z 2 und E 6 vermehrten sich im Antibiotika-Medium, bei Stamm A 3 und O 1 gelang die Züchtung nicht. In den mit Stamm Z 2 beimpften Medien vermehrten sich wiederum nur grampositive Kokken.
Auf den mit Stamm E 6 bespatelten festen Nährböden bildeten sich neben Kolonien grampositiver Bakterien auch kleine, gräulich-farblose Campylobacter-Kolonien. Dieses Koloniematerial wurde zur Züchtung des Stammes in Leberbouillon eingerieben.

Nach längerer Bebrütungszeit der Kultur (E 6) in Antibiotikathioglykolat vermehrten sich die Kokken nicht mehr. Die Vermehrung von Campylobacter wurde nicht beeinträchtigt.

Bei der durchgeführten Verdünnungsreihe bildeten sich mit Stamm Z 2 bzw. A 3 spärlicher werdende Bakterienrasen, die durch große Hemmhöfe um das Cefoxitin-Testplättchen unterbrochen wurden. Im Präparat waren grampositive Kokken zu sehen. Die Stämme wurden verworfen.

Campylobacter des Stammes E 6 konnte mit der Verdünnungsreihe isoliert werden. Die Campylobacter-Kolonien waren Cefoxitin-resistent. Die letzten Zweifel über die Campylobacter-Identität beseitigten die Resultate der biochemischen Prüfungen. Die 'Bunte Reihe'wurde auch mit C. fetus V 35 durchgeführt.

Tabelle 6: Charakterisierung von C.jejuni E 6 und C.fetus V 35. Positiv (+), negativ (Ø).

	C.jejuni E 6	C.fetus V 35
Katalase	+	+
H_2S-Bildung (Bleiacetat)	+	+
Vermehrung bei 1% Glycin	(+)	(+)
Vermehrung bei 3,5% NaCl	Ø	Ø
Nitratreduktion	+	+
H_2S-Bildung im Kliglernährboden	Ø	Ø
Vermehrung bei 37°C	+	+
Vermehrung bei 42°C	+	Ø

C. fetus V 35 bildete auf Blutagar große Kolonien.
Den Ansprüchen von C. jejuni E 6 genügte Blutagar nicht.
In der Regel gedeiht die Subspezies jejuni bei 42°C üppiger als bei 37°C (18); in den durchgeführten Versuchen konnte dies nicht bestätigt werden.Der Stamm vermehrte sich bei 37°C besser.

3.5.2 Ergebnisse der Rückisolierung von C. jejuni aus Faeces, denen die Bakterien in vitro zugefügt worden waren.
Der zweimal durchgeführte Versuch konnte mit einem Teilerfolg abgeschlossen werden.

Die ohne Campylobacter bebrüteten Kontrollböden blieben bei 42°C steril. Bei 37°C bildeten sich wenige Kolonien grampositiver Kokken.
Auf den bei 37°C mit Stuhl-Campylobacter-Kultur bebrüteten Nährmedien bildeten sich um das Cefoxitin-Testplättchen dichte Bakterienrasen aus Campylobacter-Kolonien, und auch zwischen den wenigen Kolonien der Faecesbakterien waren Campylobacter-Kolonien gewachsen.
Campylobacter konnte ebenfalls mit einer der bei 42°C bebrüteten Stuhl-Campylobacter-Agarplatte rückisoliert werden.

3.5.3 Ergebnisse der Biophotometeruntersuchungen.
Auf den Abbildungen 1 bis 4 (Seite 45 bis52) ist die Massenzunahme von Campylobacter in verschiedenen flüssigen Nährmedien durch Aufzeichnung der optischen Dichte festgehalten. Die Kurven zeigen, wie unterschiedlich sich C. jejuni in den einzelnen Medien vermehrt, und wie diskret die Massenzunahme ist.

In Abbildung 1 setzte eine optisch registrierbare Massenzunahme der Kurven 3 (Antibiotika-Thioglykolat) und 4 (Leberbouillon) nach 6 Stunden ein. Die stationäre Phase war nach 12 bzw. 10 Stunden erreicht.

Einige der Massenzuwachskurven in Abbildung 2 zeigen einen undulatorischen Verlauf. Die Transmissionsabnahme der Verlaufskontrolle war schon nach 4 Stunden zu beobachten. Eine deutlich verzögerte, aber kontinuierlich registrierte Massenzunahme ist in Diagramm 3 festzustellen.

Abbildung 3. Im dritten Versuch begann die Vermehrung von Campylobacter in allen Substraten sehr langsam. Die exponentielle Phase der Bakterien in Sojabouillon (Kurve 2) war zwischen der 18. und 20. Stunde erreicht; während der stationären Phase wurde die Lichtdurchlässigkeit auf nahezu 0 % verringert.

Eine starke Verzögerung aller Massenzuwachskurven ist der Abbildung 4 zu entnehmen; erst nach 24-stündiger Bebrütung begann eine optisch registrierbare Abnahme der Transmission.

Bemerkenswert ist, daß Campylobacter selten den typischen Verlauf eines Massenzuwachses gezeigt hat; eine typische Massenzuwachskurve zeigt die Vermehrungskontrolle in Abbildung 2.
Innerhalb einer Versuchsanordnung weisen die Campylobacter-Massenzuwachskurven Gemeinsamkeiten auf:
Die Latenzphasen stimmen relativ gut überein (Ausnahme Abb. 3, Kurve 2); die Transmissionen überschreiten 50% nicht (Ausnahme ist wieder Kurve 2 in Abb. 3). Die Antibiotika-Thioglykolatbouillon erreichte in drei von vier Versuchsdurchführungen die höchste optische Dichte.

Erfahrungsgemäß ist Campylobacter in Leberbouillon sehr gut vermehrungsfähig (Kurve 4). In den vorliegenden Versuchen konnte diese Tatsache nicht sehr überzeugend dargestellt werden. Ein typischer Massenzuwachsverlauf in Leberbouillon wurde in Abbildung 1 aufgezeichnet. Die optische Dichte blieb mit T = 70% gering.

Aufgrund der Diagramme fördert p-Aminobenzoesäure, einer Peptonbouillon zugesetzt, die Vermehrung von Campylobacter nicht. Das Blutkulturmedium 'Supplement Peptone Broth II' (Fa. Becton-Dickinson) enthält p-Aminobenzoesäure im selben Verhältnis (0,05 Gramm auf 1 Liter); auch in diesem Substrat konnte sich Campylobacter nur mäßig gut vermehren; ebenso war die 'Brain-Heart-Infusion' der Fa. Fresenius, die p-Aminobenzoesäure im angegebenen Mischungsverhältnis enthält, für Campylobacter wenig geeignet.

Abbildung 1: Kontinuierlich registrierte Massenzuwachskurven von C.jejuni in 5 verschiedenen Nährsubstraten. Küvette 6 enthielt p-Aminobenzoesäure ohne Inokulum. Erläuterung der Abb. im Text auf Seite 43.

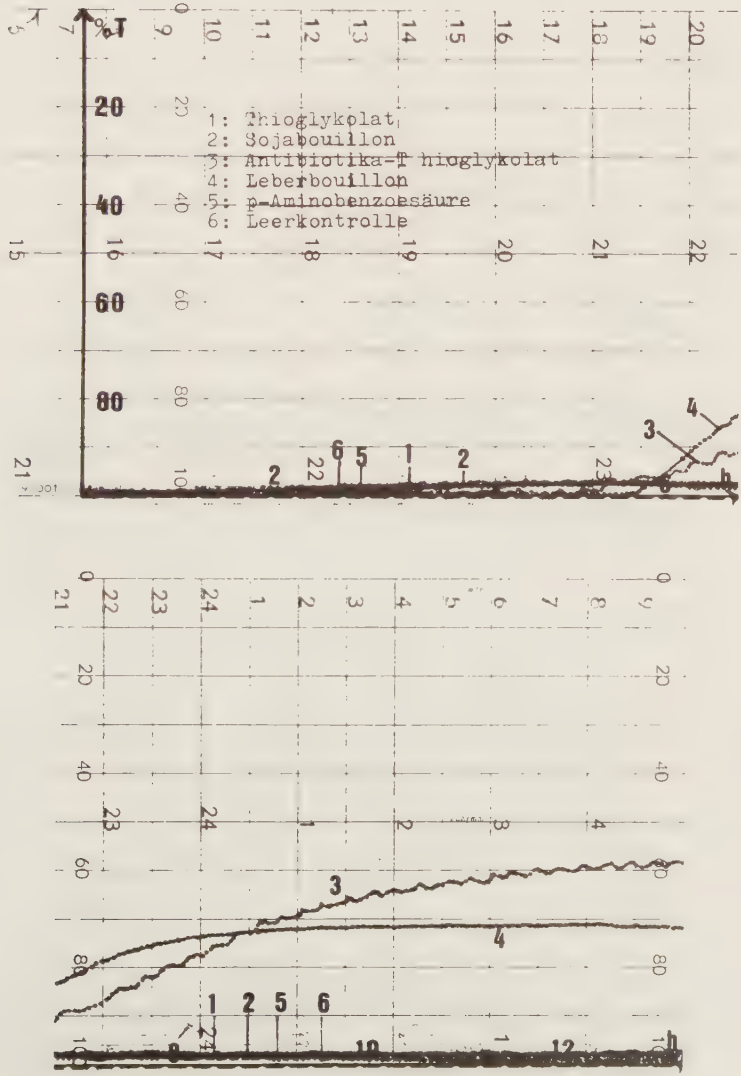
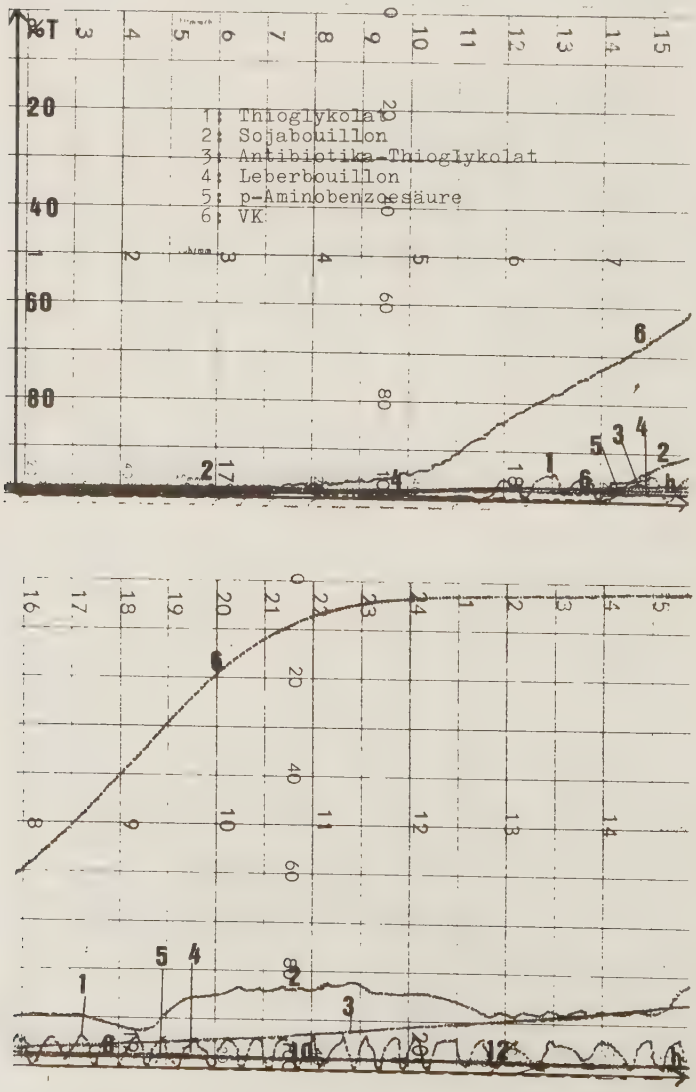


Abbildung 2: Kontinuierlich registrierte Massenzuwachskurven von C.jejuni in 5 verschiedenen Nährsubsrtaten. Küvette 6 enthielt als Vermehrungskontrolle (VK) eine Bacteroidessubkultur in p-Aminobenzoesäure. Erläuterung der Abb. im Text auf Seite 43.



Fortsetzung der Abbildung 2: Legende der Abbildung auf Seite 46.

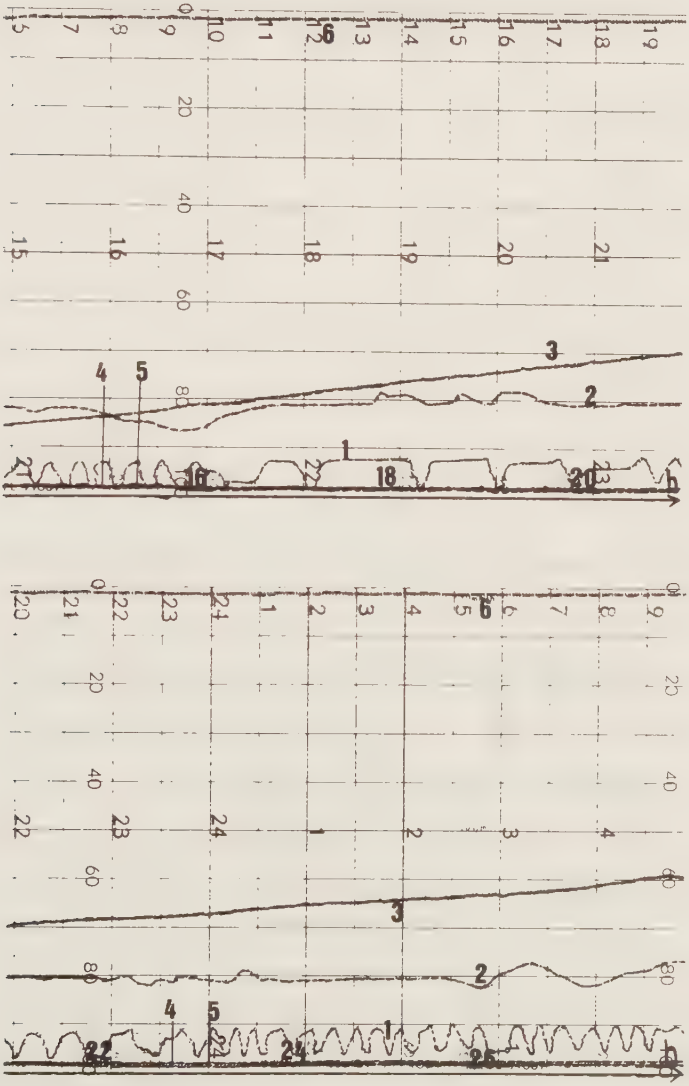
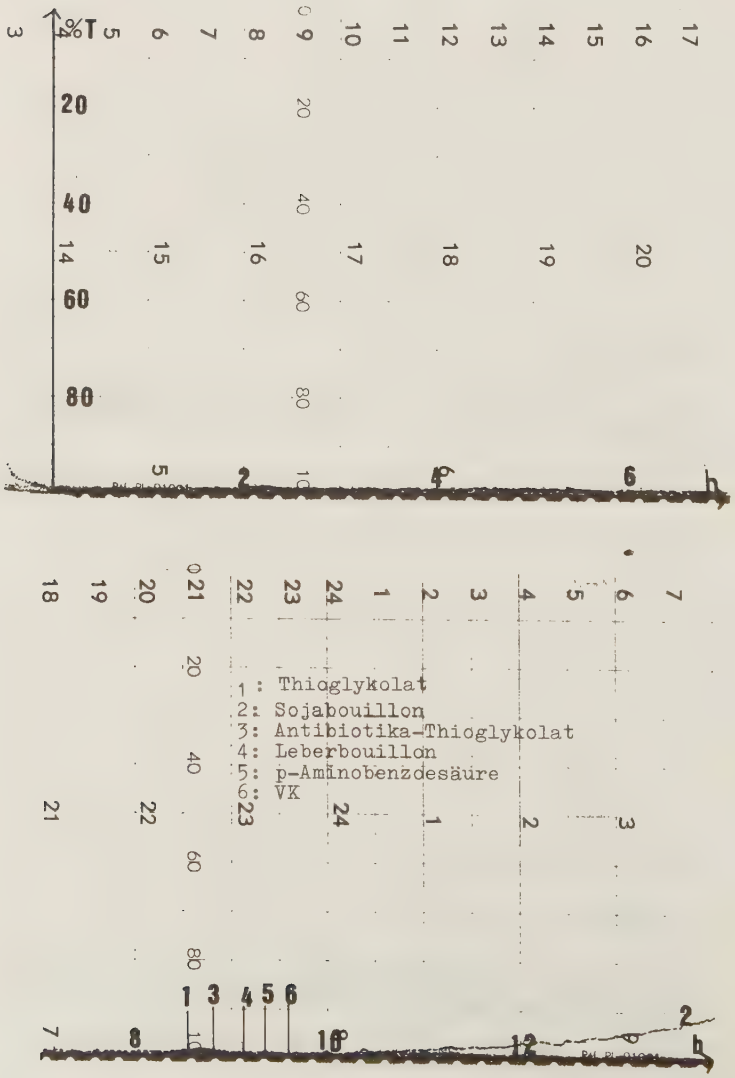


Abbildung 3: Kontinuierlich registrierte Massenzuwachskurven von C. jejuni in 5 verschiedenen Nährsubstraten. Küvette 6 enthielt als Vermehrungskontrolle (VK) eine Bacteroidessubkultur in p-Aminobenzoesäure. Erläuterung der Abb. im Text auf Seite 43.



Fortsetzung der Abbildung 3: Legende der Abb. auf S. 48.

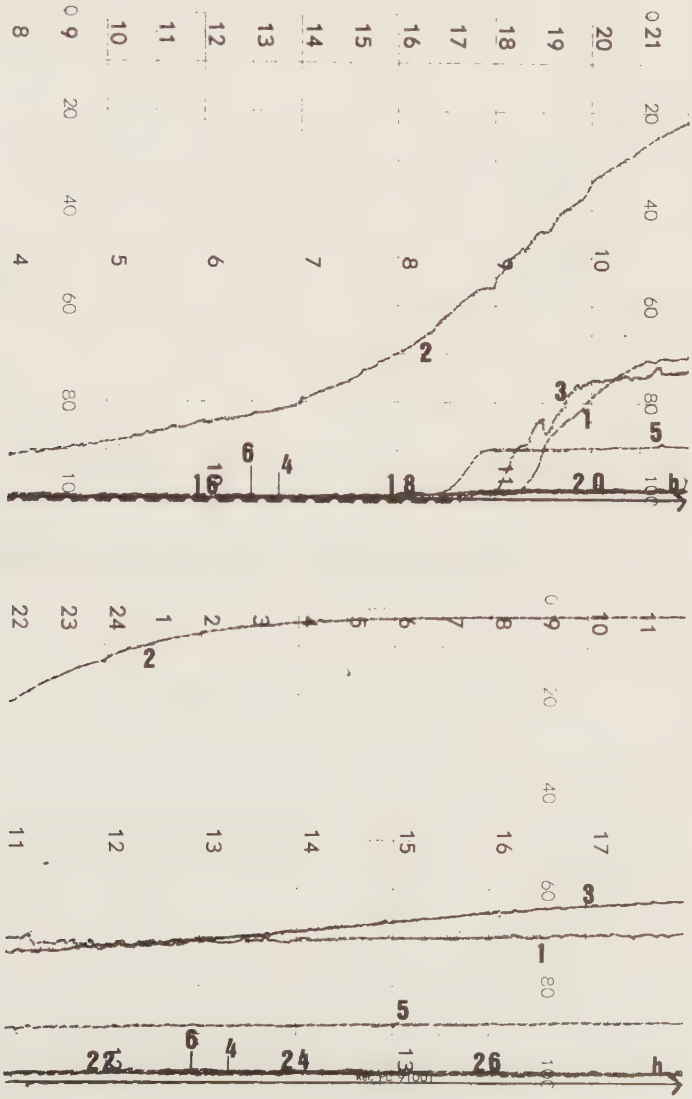
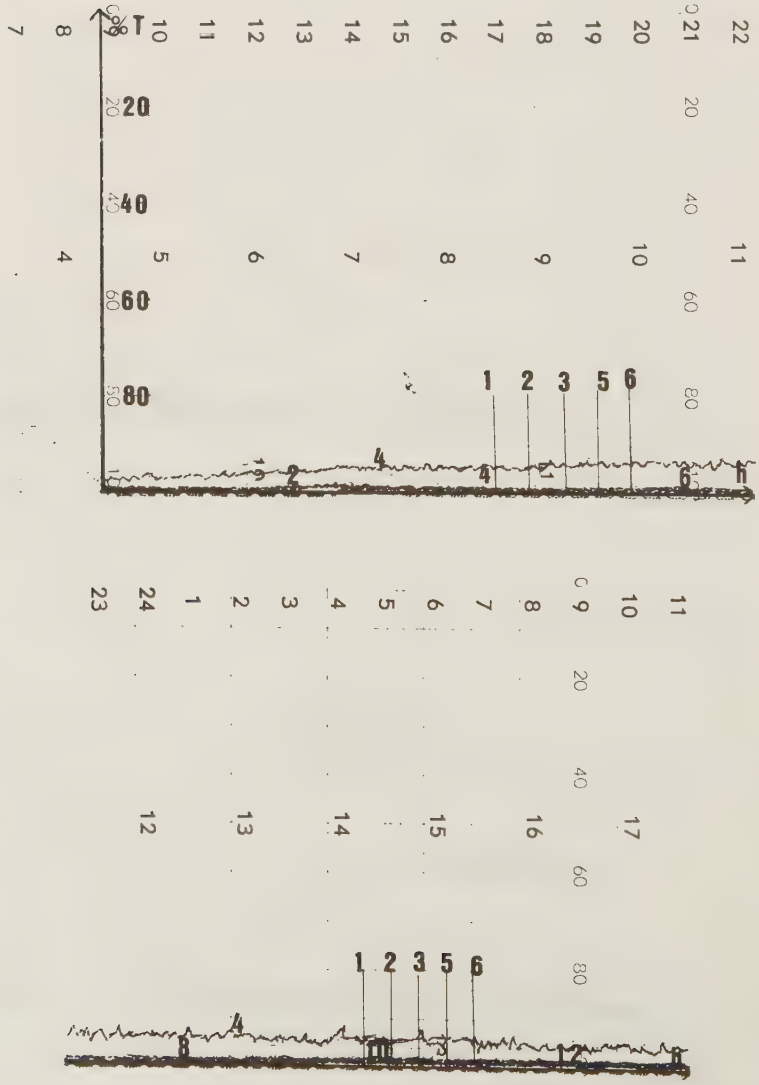
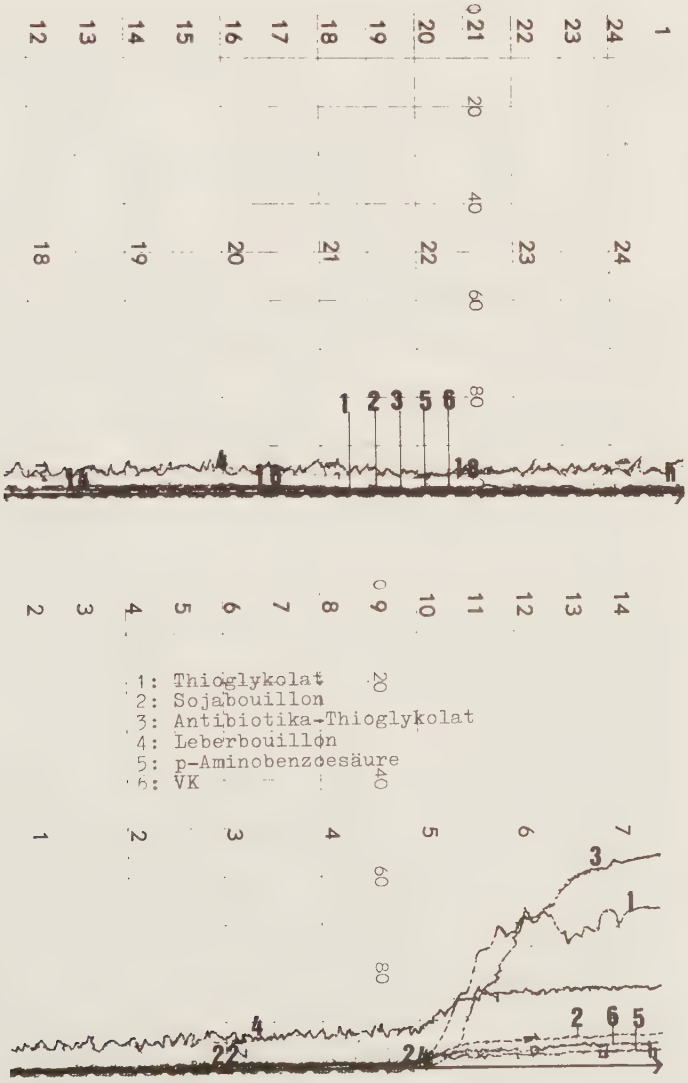


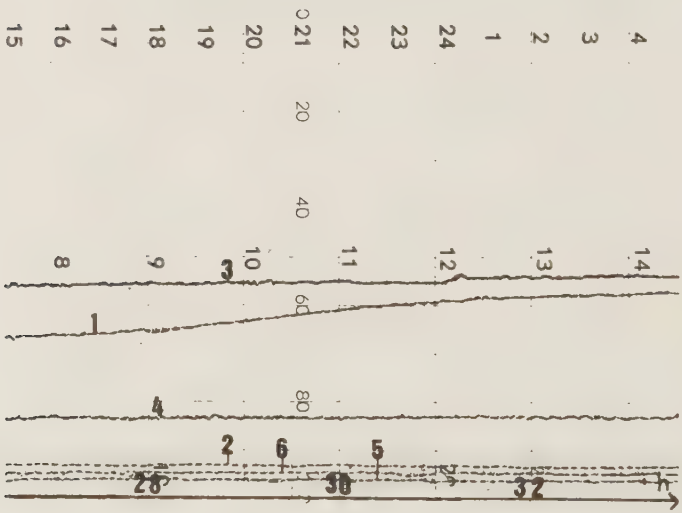
Abbildung 4: Kontinuierlich registrierte Massenzuwachskurven von C.jejuni in 5 verschiedenen Nährsubstraten. Küvette 6 enthielt als Vermehrungskontrolle (VK) eine Bacteroidessubkultur in p-Aminobenzoesäure. Erläuterung der Abbildung im Text auf Seite 43.



Fortsetzung der Abbildung 4: Legende der Abbildung auf Seite 50.



Fortsetzung der Abbildung 4: Legende der Abbildung auf Seite 50.



4. Diskussion

4.1 Besprechung der allgemeinen Untersuchungen zur Campylobacter-Isolierung.

Das Screening der Blutkulturen hat gezeigt, daß die Qualität der kommerziell erhältlichen Blutkulturmedien sehr unterschiedlich ist. Campylobacter ist kein strenger Anaerobier; er fordert ein mikroaerophiles Milieu. Das wird durch die Tatsache deutlich, daß er sich in unbelüfteten wie auch in belüfteten Kulturen vermehrt hatte. Hirn-Herz-Bouillon kann für das Züchten von Aerobier und Anaerobier gleichermaßen verwendet werden; gerade in einer solchen (Brain-Heart-Infusion (BHI) derFa. La Roche) konnte sich Campylobacter sehr gut vermehren, nicht jedoch in der Hirn-Herz-Bouillon der Fa. BioMérieux. Die Schaedler-Bouillon, die für Anaerobier und fakultative Anaerobier eingesetzt wird, ist trotzdem für die Züchtung von Campybbacter ungeeignet.

Das Resultat dieses Screenings deckt sich mit der Feststellung von BUTZLER und SKIRROW (18) "A careful technique may be more important than the constitution of the medium".

Die Aussage ist ebenfalls treffend für das Ergebnis der Untersuchungen mit verschiedenen Transportmedien. Die Faktoren Zeit, Milieu und Medium hatten wenig Einfluß auf die Züchtbarkeit von Campylobacter.

Die Überprüfung der Empfindlichkeit von Campylobacter gegenüber Cefoxitin erbrachte eine minimale Hemmkonzentration zwischen 128 mg/l und 64 mg/l. VANHOOF und Mitarb. (93) kamen bei ihren Versuchen zur Cefoxitin-

Empfindlichkeit von Campylobacter zu folgenden Ergebnissen: Von 95 untersuchten C. fetus ss. jejuni-Stämmen wurden drei bei einer Konzentration von 6,25µg/ml gehemmt, vier bei 12,5 µg/ml, drei bei 25 µg/ml, 20 bei 50 µg/ml, 37 bei 100 µg/ml und 28 bei einer Konzentration von über 100 µg/ml; 90 % der Stämme wurden erst ab einer Konzentration von 50 µg Cefoxitin/ml und mehr gehemmt. Demnach kann Cefoxitin den Nährmedien als selektivierendes Antibiotikum zugesetzt werden.

4.2 Besprechung der Campylobacter-Enteritis.

Die Kenntnis und damit das Interesse an menschlichen Campylobacter-Enteritiden hat in den letzten Jahren stark zugenommen. Inzwischen liegen Publikationen über Campylobacter-Enteritiden aus der ganzen Welt vor: Sehr zahlreich aus Nordamerika (4, 8, 71, 81), Großbritannien (2, 13, 17, 67, 80), Belgien (18, 20, 30), Australien (13, 82) und Neuseeland (94), sowie aus Afrika (28, 74), Japan (46), der Schweiz (40), aus Deutschland (83), Schweden (56, 62), Indonesien (75), Brasilien (73) und aus vielen Ländern mehr.

Häufig werden Diarrhöen, bei denen kein Erreger isoliert werden kann, den Virusinfektionen zugeordnet. Es ist nicht auszuschließen, daß ein Teil dieser Enteritis-Erkrankungen auch durch Campylobacter verursacht wird; da aber Campylobacter spezielle Isolierungsmethoden verlangt, deren routinemäßige Durchführung noch nicht selbstverständlich ist, kann er nicht diagnostiziert werden.
In Belgien wird gezielt nach Campylobacter gesucht, dort ist auch die Isolierungsrate hoch.

Studien aus Großbritannien und Belgien (18) sowie aus

Colorado (8) zeigen, daß Campylobacter-Enteritiden im Sommer häufig sind. Paralellen zu Salmonellen-Erkrankungen werden deutlich.
Salmonellosen wie Campylobacteriosen können Zoonosen sein. Die Übertragung von Tier zu Mensch und von Mensch zu Mensch ist bei beiden Erkrankungen möglich.
Tiere stellen für Salmonellen und Campylobacter ein großes Erregerreservoir dar. Die Infektionsquelle für den Menschen ist dann meistens ein kontaminiertes Nahrungsmittel.

DUFFELL und SKIRROW (31) berichten von einer Schaf-Mensch-Infektion. Ein Farmer versuchte bei einem totgeborenen Lamm einer infizierten Herde eine Mund-zu-Mund-Beatmung und wurde dabei selbst infiziert.

Eine zu beachtende Infektionsquelle für den Menschen stellen Campylobacter-infizierte Hundefaeces dar (BLASER und Mitarb.[7]).

Neben sporadischen Erkrankungsfällen sind auch Erkrankungen von Personengruppen bekannt. Ausgangspunkt stellt dann meistens ein infiziertes Nahrungsmittel dar: Zum Beispiel erkrankte in Japan fast die Hälfte der Kinder eines Kindergartens an Enteritis; das gemeinsame Mittagessen oder die Zwischenmahlzeit wurden als Ursache vermutet. Die Campylobacter-Isolierungsrate betrug 39 % (ITOH und Mutarb.[46]). HAYEK und CRUICKSHANK (45) berichteten über eine Hochzeitsgesellschaft, bei der mehrere Gäste an Campylobacter-Enteritis erkrankten. Vermutlich war das Geflügel kontaminiert.

Gerade Geflügel ist als Campylobacterreservoir zu beachten (BRUCE und Mitarb.[15]), ebenso rohe, nicht pasteurisierte Milch (ROBINSON und Mitarb.[77], TAYLOR und Mitarb.[86]). Nicht zuletzt kann Wasser Ausgangspunkt

einer Campylobacter-Infektion sein. 1978 ereignete sich in Vermont/USA ein solcher Fall; die Zahl der erkrankten Personen war auf über 2 000 geschätzt worden (BLASER und Mitarb.[8]).

Campylobacter-Infektionen scheinen besonders häufig in heißen Ländern zu sein (BUTZLER und SKIRROW[18]). Dies wird durch die mit 11% recht hohe Isolierungsrate bei Kindern aus Zentralafrika bestätigt (DE MOL und BOSMANS[28]). Auch in Soweto/Südafrika wird Campylobacter sehr oft diagnostiziert: C. fetus ss. jejuni wurde aus 34% der Faecesproben von Säuglingen isoliert, die an akuter Gastroenteritis erkrankt waren und immer noch aus 13% der Proben asymptomatischer Probanden (RICHARDSON udn KOORNHOF[74], 1979).
Ab einem Alter von 9 Monaten stieg bei BOKKENHEUSER und Mitarb.[12] die Isolierungsrate bei Kindern, die nicht an Diarrhoe litten. Auf der Suche nach der Infektionsquelle wurden aus 86,7% des untersuchten Geflügels und aus 36,4% der Hundefaeces C. fetus ss. jejuni isoliert. Keiner der Hunde zeigte irgendwelche Anzeichen von Diarrhoe.
Geflügel wird in den Familien aus Soweto viel gegessen; es wird in den Haushalten selbst geschlachtet und zubereitet. Zweifelsohne werden Reste an Hunde verfüttert; die epidemiologischen Zusammenhänge werden erkennbar. Nach dieser Darstellung müssen auch hygienische beziehungsweise Milieuverhältnisse als Ursache einer Infektkette vermutet werden.
Gemäß der hohen Infektionsraten in Südafrika ist auch der Antikörpertiter gegen Campylobacter in gewerblichem humanem Gammaglobulin das aus Südafrika stammt, viermal höher, als in jenem aus den übrigen Teilen der Welt (BOKKENHEUSER und Mitarb.[12]).

Die Campylobacteriosis darf natürlich nicht als eine Erkrankung bei sozial schwächeren Personengruppen heißer Klimata bezeichnet werden, da auch in "zivilisierten" Ländern Campylobacter nicht selten diagnostiziert wird. Gerade auch in Deutschland ist damit zu rechnen, daß durch die zunehmende Kenntnis des Erregers er auch häufiger diagnostiziert werden wird (83). Durch die hohe Haushundzahl bei Familien gemäßigter Breiten ist die Möglichkeit einer Infektion immer gegeben (BLASER und Mitarb.[7]).

Der Ausspruch "All one can say is that where these organisms have been looked for they have been found" (BUTZLER und SKIRROW[18]) stimmt nachdenklich, da von den eigenen untersuchten Stuhlproben Campylobacter nicht isoliert werden konnte.
Weiterhin deutet der Satz auch auf die weite Verbreitung des Erregers hin. Sie scheint letztendlich unabhängig von der geographischen und klimatischen Lage zu sein und unabhängig von Alter und Geschlecht des Patienten. Das Verhältnis männlich zu weiblich, das KARMALI und FLEMING (50) mit 3 : 2 angeben ist zwar beachtlich, aber für das Erkrankungsrisiko sicher nicht allzu ausschlaggebend.

Die Zahl der eigenen untersuchten Faecesproben war mit 139 diarrhöischen relativ gering; hinzu kommt die Verteilung auf die fünf verschiedenen Isolierungsmethoden. Auch die Auswahl der Probanden war nicht optimal. Viele der zur Untersuchung gekpmmenen Faeces waren von Neugeborenen, die aus der Frauenklinik direkt in die nur wenige Meter entfernte Kinderklinik eingeliefert worden waren. Es ist selten, aber es wäre denkbar, daß sich Neugeborene schon intrauterin, während oder gleich

nach der Geburt mit Campylobacter infizieren. MAWER und SMITH (59) beschreiben einem Fall, bei dem aus dem Stuhl einer 34-Wochen-Frühgeburt Campylobacter isoliert wurde, und die Mutter zur Zeit der Entbindung an einer Campylobacter-Enteritis litt. Es sei nochmals an die Erstbeschreiber VINZENT und Mitarb. (1947) erinnert, deren Patientin vor dem septischen Abort rohe Milch einer Kuh getrunken hatte, die kurz vorher verworfen hatte (ULLMANN[89]). Derartige Verläufe sind in der Literatur bis jetzt selten beschrieben worden.

Ein zusätzlich beeinträchtigender Faktor war die mit etwa 30 % relativ häufige Antibiotikabehandlung der Patienten vor der Stuhlintersuchung auf Campylobacter. Die am meisten verordneten Antibiotika waren Ticarcillin, Gentamicin, Cefuroxim, Ampicillin, Oxacillin, Cephalexin, Colistin.
Gentamicin und Ampicillin bzw. Ampicillinanaloge dürften den größten Einfluß auf eventuell vorhandenen Campylobacter genommen haben (15, 19, 20,59, 68, 89, 92).
Zum Teil vergingen viele Stunden, bis die Faecesproben von der Kinderklinik ins Hygiene-Institut gelangten und verarbeitet werden konnten. Durch die lange Generationszeit wird Campylobacter von sich schnell vermehrenden Bakterien überwuchert. Solche sind in der fäkalen Mischflora massenhaft vorhanden; die Säuerung des Mediums durch Kohlenhydratfermentation anderer Bakterien verhindert ebenfalls die Vermehrung von Campylobacter; die Frische der Faecesproben ist ein wichtiger Faktor für einen Isolierungserfolg von Campylobacter aus einer Mischpopulation.
RICHARDSON und KOORNHOF (74) aus Südafrika haben streng darauf geachtet, daß die Stuhlproben innerhalb von zwei Stunden nach Abnahme am Patienten verarbeitet wurden. Weniger empfindlich verhält sich Campylobacter

in Reinkultur. Wie die Versuche mit Transportmedien gezeigt haben, ist Campylobacter noch nach Tagen vermehrungsfähig (vgl. Seite 53).

Bei Verdacht auf Campylobacter-Enteritis wäre ein Isolierungsversuch aus Stuhl und gleichzeitig aus Blut womöglich erfolgreicher gewesen. Campylobacter wird bei Enteritis nicht selten auch aus Blut isoliert (KARMALI und FLEMING[50], BUTZLER und Mitarb.[20]). Es kommt vor, daß Campylobacter nur aus Blut und nicht aus Faeces gezüchtet werden kann, obwohl eine Enteritis-Erkrankung vorliegt.
Zu beachten sind ferner die Septikämien, die nach Abklingen der Diarrhöen auftreten können (BUTZLER und Mitarb.[20]).

Die Isolierungstechniken für Campylobacter wurden seit der intensiven Auseinandersetzung mit dem Erreger ständig erneuert und verbessert.
DEKEYSER und Mitarb. (30) hatten die ersten Erfolge mit einem 0,65 µm-Filter, den Campylobacter aufgrund seiner geringen Größe passieren kann.
Ein weiterer Fortschritt bedeuteten die noch selektiveren Methoden mit Antibiotika-Nährmedien, die SKIRROW und dann auch BUTZLER (18) entwickelt hatten.
KARMALI und FLEMING (49) versuchten die Campylobacter-Isolierung mit dem schon lange bekannten Fortner-Verfahren.

Üblicherweise werden Anaerobier-Brutschränke oder Anaerobier-Töpfe zum Bebrüten verwendet. Die O_2-Spannung sollte auf 5-7 % reduziert werden. Dies wird erreicht, indem der Inkubator teilweise evakuiert wird, und an-

schließend mit einem Gasgemisch aus 15 % CO_2 und 85% N_2 wieder aufgefüllt wird. Für die Anaerobier-Töpfe stellt die Verwendung von gaserzeugenden Systemen (zum Beispiel GasPak oder GasKit) eine echte Alternative dar (BUTZLER und SKIRROW[18]); der Aufwand ist überdies gering.

Das Vorgehen mit Anreicherungsbouillon ist unzweckmäßig und ohne besondere Vorteile. Die meisten der beschriebenen Isolierungen wurden durch direktes Beimpfen fester Agarböden mit den Faecesproben, ohne zuvoriges Anreichern in flüssigem Medium, erzielt.

Die ausreichende Empfindlichkeit und Selektivität der auch in den eigenen Versuchen verwendeten Antibiotika-Nährböden nach SKIRROW bzw. BUTZLER sind durch die vielfach beschriebenen Isolierungen genügend oft bestätigt worden. Auch die in vitro in die Stuhlproben gemischten Campylobacter konnten mit diesen Medien rückisoliert werden.

5. Zusammenfassung

Für zwei Campylobacter-Stämme der Subspezies intestinalis wurde nachgewiesen, daß die Bakterien auch dann noch vermehrungsfähig sind, nachdem sie längere Zeit in einem Transportmedium beziehungsweise in aerobem Milieu eines Reagenzglases aufbewahrt wurden.

Die Transportmedien waren Port-a-Cul-Tube (Fa. BBL/USA), Stuart's Medium und ein steriles Reagenzglas.
Der Nachweis der Vermehrung srfolgte nach 6 Stunden und weiter in 24-stündigen Abständen bis sieben Tage.
Der Erfolg dieses Versuches wurde dadurch begünstigt, daß Campylobacter in Reinkultur vorlag.

Bei den Untersuchungen zur Vermehrung von C. fetus ss. intestinalis in kommerziell erhältlichen Blutkulturmedien wurde folgendes Ergebnis erzielt:

Sehr gute Vermehrung wurde beobachtet in Liquoid, BHI und Liquoid, Thio (beide Fa. La Roche), Trypcase diphasique (Fa. BioMérieux), in Fluid Thioglycolate Medium und Anaérobie Hémoculture (beide Fa. Fresenius).

Gut für die Züchtung von Campylobacter erwies sich die Blood Culture Bottle, Columbia Broth (Fa. Fresenius).

Mäßig gut vermehrungsfähig ist Campylobacter in Supplement Peptone Broth II der Fa. Becton-Dickinson.

Ungeeignet für die Campylobacter-Vermehrung sind Liquoid, TSB und Liquoid, Col sowie Liquoid, TSB+Suc (alle drei Fa. La Roche), Hémoline Bouillon coeur-cervelle und Bouillon de Schaedler (alle drei Fa. BioMérieux), ebenso Microgrost Blutkulturflasche (Fa. Biotest) und Brain-Heart-Infusion, Milieu pré-réduit, Aérobie Hémoculture

und Flacon de Castaneda (alle vier Fa. Fresenius).

Mit fünf verschiedenen Methoden wurde versucht, C.fetus ss. jejuni aus 394 Stuhlproben zu isolieren. 139 Proben stammten von Patienten, die an Diarrhoe litten.

Methode 1: Die Faecesproben wurden in je zwei flüssigen Thioglykolatsubstraten angereichert, denen folgende Antibiotika zugefügt waren: Vancomacin (V) (10 mg/l), Polymyxin (P) (2,5 IU/l) und Trimethoprim (T) (5 mg/l) beziehungsweise V, P, T und Cefoxitin (C) (16 mg/l). Nach 72-stündiger Bebrütung wurde je ein Tropfen auf drei feste Agarböden (Albimi-Kochblut-, Kochblut- und Endoagar) ausgespatelt, die nochmals bei 37°C bebrütet wurden, Albimi-Kochblutagar anaerob und die beiden anderen aerob.

Methode 2: Erweiterung um zwei Anreicherungsmedien, denen noch die Antibiotika Bacitracin (B) (25 IU/ml) und Actidion (A) (0,05 mg/ml) zugesetzt waren. Die Durchführung erfolgte nach Methode 1.
(VPT-, VPTC-, VPTBA-, VPTCBA-Medium).

Methode 3: Bei dieser Methode wurden die Anreicherungsmedien bei 42°C inkubiert. Die festen Nährmedien wurden weiterhin bei 37°C bebrütet.

Methode 4: Die Stuhlproben wurden auf feste SKIRROW-Medien (VPT-Medium) ausgespatelt und bei 42°C bebrütet.

Methode 5: Ausspateln der Faecesproben auf feste BUTZLER-Medien und bebrüten bei 42°C.

Die Anreicherungstechnik zeigte den Nachteil, daß sich in dem Nährsubstrat auch andere Faecesbakterien ver-

mehrten; außerdem vergingen bis zum Vorliegen der Ergebnisse 6 Tage.

Die besonderen Vorteile von SKIRROW- beziehungsweise BUTZLER-Medien sind die einfache Handhabung durch Verwendung der im Handel erhältlichen Antibiotika-Mischungen und nicht zuletzt die Bestätigung ihrer Wirksamkeit durch zahlreiche Isolierungen.
Bei den eigenen durchgeführten Versuchen konnte Campylobacter mit diesen Methoden aus Mischpopulationen isoliert werden.

Die mit dem Biophotometer aufgezeichneten Massenzuwachskurven bestätigen die langsame Vermehrung von Campylobacter in flüssigen Nährsubstraten.

6. Literaturverzeichnis

1. AGUMBAH, G.J., J.S. OGAA:

Genital tropism and coital transmission of Campylobacter fetus subspecies intestinalis
Br. Vet. J. 135, 83-91 (1979)

2. ANONYMOUS:

Campylobacter infections in Britain
Br. Med. J. 1, 1357 (1978)

3. ANONYMOUS:

Campylobacter Enteritis (Editorial)
Lancet 2, 135-6 (1978)

4. BARRETT, T.J., P.A. BLAKE, D. SWEET:

Campylobacter fetus subspecies jejuni in Georgia
J. Med. Assoc. Ga. 69, 971-2 (1980)

5. BERDEN, J.H., H.L. MUYTJENS, L.B. VAN DE PUTTE:

Reactive arthritis associated with Campylobacter jejuni enteritis
Br. Med. J. 1, 380-1 (1979)

6. BLASER, M., W.L. WANG:

Infections of humans with Campylobacter fetus
Can. Med. Assoc. J. 119, 1390-1 (1978)

7. BLASER, M., J. CRAVENS, B.W. POWERS, W.L. WANG:

Campylobacter enteritis associated with canine infection
Lancet 2, 979-81 (1978)

8. BLASER, M., J. CRAVENS, R. RIEPE, B. POWERS, W.L.WANG:

Campylobacter Enteritis-Colorado
Morbidity and Mortality Weekly Report

July, 7, p. 226, 231 (1978)

9. BLASER, M., R.B. PARSONS, W.L. WANG:

Acute colitis caused by Campylobacter fetus subspecies jejuni
Gastroenterology 78, 448-53 (1980)

10. BLASER, M.:

Campylobacter fetus ss. jejuni: The need for surveillance
J. Infect. Dis. 141, 670-1 (1980)

11. BLASER, M., R.J. WALDMAN, T. BARRETT, A.L. ERLANDSON:

Outbreaks of Campylobacter enteritis in two extended fami lies: evidence for person-to-person transmission
J. Pediatr. 98, 254-7 (1981)

12. BOKKENHEUSER, V.D., N.J. RICHARDSON, J.H. BRYNER, D.J. ROUX, A.B. SCUTTE. H.J. KOORNHOF, I. FREIMAN, E. HARTMAN:

Detection of Enteric Campylobacteriosis in Children
J. Clin. Microbiol. 9, 227-32 (1979)

13. BRADSHAW, M.J., R. BROWN, J.H. SWALLOW, J.A.RYCROFT:

Campylobacter enteritis in Chelmsford
Postgrad. Med. J. 56, 80-4 (1980)

14. BROUGHAM, D.I., R.J. MEECH DIP VEN:

Campylobacter enteritis: A common cause of adult diarrhoea
NZ. Med. J. 90. 239-40 (1979)

15. BRUCE, D., W. ZOCHOWSKI, I.R. FERGUSON:

Campylobacter enteritis
Br. Med. J. 2 1219 (1977)

16. BRUNTON, W.A.T., A.M.M. WILSON, R.M. MACRAE:

Erythromycin-Resistant Campylobacters
Lancet 2, 1385 (1978)

17. BRUNTON, W.A.T., D. HEGGIE:

Campylobacter-associated diarrhoea in Edinburgh
Br. Med. J. 2, 956 (1977)

18. BUTZLER, J.P., M.B. SKIRROW:

Clinics in Gastroenterology
volume 8, number 3, chapter 8
Infections of the G.I. tract
September 1979, 737-766
W.D. Saunders Company Ltd. London

19. BUTZLER, J.P., M. DE BOECK:

Isolation and Identification of Campylobacter
Laboratorium voor Microbiologie
St. Pietersziekenhuis
Hoogstraat, 322
1000 BRUSSEL / Belgien

20. BUTZLER, J.P., J.P. DEREUME, P. BARBIER, L.SMEKENS, J. DEKEYSER:

L'origine digestive des septicémies àCampylobacter
Nouv. Presse Méd. 6, 1033-35 (1977)

21. CADRANEL, S., P. RODESCH, J.P. BUTZLER, P. DEKE:

Enteritis due to "Related Vibrio" in Children
Am. J. Dis. Child. 126, 152-55 (1973)

22. CAREY, P.B., E.P. WRIGHT:

Campylobacter jejuni in a male homosexual
Br. J. Vener. Dis. 55, 380 (1979)

23. CAVANAGH, P., A. RYDEN:

Campylobacter isolated from hospital patients
Med. J. Aust. 2, 435 (1978)

24. CLARK, B.L., M.J. MONSBOURGH:

The prevalence of Campylobacter fetus in the gall bladder of sheep
Aust. Vet. J. 55, 42-3 (1979)

25. CLARK, B.L., J.H. DUFTY:

Isolation of Campylobacter fetus from bulls
Aust. Vet. J. 54, 262-3 (1978)

26. COLGEN, T., J.R. LAMBERT, A. NEWMAN, S.C. LUK:

Campylobacter jejuni enterocolitis. A clinic-pathologic study
Arch. Pathol. Lab. Med. 104, 571-4 (1980)

27. DALE, B.:

Campylobacter enteritis
Br. Med. J. 2, 318 (1977)

28. DE MOL, P., E. BOSMANS:

Campylobacter Enteritis in Central Africa
Lancet 1, 604 (1978)

29. DARLING, W.M., R.N. PEEL, M.B. SKIRROW, A. MULIRA:

Campylobacter Cholecystitis
Lancet 1, 1302 (1979)

30. DEKEYSER, P., M. GOUSSIN-DETRAIN, J.P. BUTZLER, J. STERNON:

Acute Enteritis Due to Related Vibrio: First Positive Stool Cultures
J. Infect. Dis. 125, 390-92 (1972)

31. DUFFELL, S.J., M.B. SKIRROW:

Shepherd's scours and ovine Campylobacter abortion -- a "New Zoonosis"?

32. DZAU, V.J., P.H. SCHUR, L. WEINSTEIN:

Vibrio fetus endocarditis in a patient with

systemic lupus erythematodes
Am. J. Med. Sci. 272, 331-4 (1976)

33. EBRINGER, R.:

Symposium on the spondylarthritides. Spondylarthritis and the post-infectious syndromes
Rheumatol. Rehabil. 18, 218-29 (1979)

34. EIDEN, J., G. MOSELEY, H.P. DALTON:

Campylobacter fetus ss. jejuni bacteremia
south. med.J. 73, 1092-3 (1980)

35. FICK, R.B., R. ISTURIZ, E.C. CADMAN:

Campylobacter fetus septic arthritis: Report of a case
YALE L. Biol. Med. 52, 339-44 (1979)

36. FIVAZ, B.H., R. SWANEPOL, R.L. MCKENZIE, A.WILSON:

Passive transmission of Campylobacter fetus by immunised bulls
Aust. Vet.J. 54, 531-3 (1978)

37. GILCHRIST, M.J., GREWELL, C.M., J.A. WASHINGTON:

Evaluation of media for isolation of Campylobacter fetus subspecies jejuni from fecal specimens
J. Clin. Microbiol. 14, 393-5 (1981)

38. GOSH, H.L.:

Campylobacter Enteritis
Med. J. Aust. 1, 57 (1979)

39. GOODMAN, M.J., K.W. OEARSON, D. MCGHIE, S. DUTT, S.G. DEODHAR:

Campylobacter and Ghardia lamblia causing exacerbation of inflammatory bowel disease
Lancet 2, 1247 (1980)

40. GRAF, J., SCHAER, I. HEINZER:

Campylobacter-jejuni-Enteritis in der Schweiz
Schweiz. Med. Wochenschr. 110, 590-5 (1980)

41. GRANT, I.H., N.J. RICHARDSON, V.D. BOKKENHEUSER:

Broiler chickens as potential source of Campylobacter infections in humans
J. Clin. Microbiol. 11, 508-10 (1980)

42. HALLMAN, L., F. BURKHARDT:

Klinische Mikrobiologie
4. Auflage 1974
Georg Thieme Verlag Stuttgart

43. HAVALAD, S., M.J. CHAPPLE, M. KAHAKACHCHI, D.B. HARGRAVES:

Convulsions associated with Campylobacter enteritis
Br. Med. J. 280, 984-5 (1980)

44. HAY, D.J., L.A. GANGULI:

Campylobacter enteritis presenting as an acute abdomen
Postgrad. Med. J. 56, 205-6 (1980)

45. HAYEK, L.J., J.G. CRUICKSHANK:

Campylobacter enteritis
Br. Med. J. 2, 1219 (1977)

46. ITOH, T., K. SAITO, T. MARUYAMA, S. SAKAI, M.OHASHI, A. OKA:

An outbreak of acute enteritis due to Campylobacter fetus ss. jejuni at a nursery school of Tokyo
Microbiol. Immunol. 24, 371-9 (1980)

47. JONES, A.:

Campylobacter enteritis in a food factory

Lancet 1, 618-9 (1979)

48. JONES, P.H., A.T. WILLIS, D.A. ROBINSON, M.B. SKIRROW, D.S. JOSEPHS:

Campylobacter enteritis associated with the consumption of free school milk
J. Hyg. 87, 155-62 (1981)

49. KARMALI, M.A., P.C. FLEMING:

Application of the Fortner Principle to Isolation of Campylobacter from Stools
J. Clin. Microbiol. 10, 245-7 (1979)

50. KARMALI, M.A., P.C. FLEMING:

Campylobacter enteritis
Can. Med. Assoc. J. 120, 1525-32 (1979)

51. KARMALI, M.A., Y.C. TAN:

Neonatal Campylobacter enteritis
Can. Med. Assoc. J. 122, 192-3 (1980)

52. KOSUNEN, T.U., O. KAURANEN, J. MARTIO, T. PITKAENEN, A. POENKAE, L. HORTLING, S. AITTONIEMI, O. MUTRU, O. PENTTILAE, S. KOSKIMIES:

Reactive arthritis after Campylobacter jejuni enteritis in patients with HLA-B 27
Lancet 1, 1312-3 (1980)

53. KRUTCHICK, A.N., W. VELASQUEZ:

Campylobacter fetus infection in a patient with Hodgkin's disease
JAMA 238, 1810-1 (1977)

54. LAMBE, D.W., D.A. FERGUSON, S.L. WIENER, J.P. BUTZLER:

Campylobacter fetus ss. jejuni: isolation from patients with gastroenteritis
South. Med. J. 74, 157-61 (1981)

55. LAMBERT, J.R., M.E. TISCHLER, M.A. KARMALI, A. NEWMAN:

Campylobacter ileocolitis: an inflammatory bowel disease
Can. Med. Assoc. J. 121, 1377-9 (1979)

56. LINDQUIST, B., J. KJELLANDER, T. KOSUNEN:

Campylobacter enteritis in Sweden
Br. Med. J. 1, 303 (1978)

57. LOPEZ, C.E., D. JACKSON:

Campylobacter enteritis
J. Med. Assoc. Ga. 69, 597-600 (1980)

58. LOWE, A.:

Campylobacter enteritis
Med. J. Aust. 1, 573 (1979)

59. MAWER, S.L., B.A.M. SMITH:

Campylobacter infection of prmature baby
Lancet 1, 1041 (1979)

60. MACLAREN, A.P., C.L. WRIGHT:

Campylobacter fetus infection in dairy herds in south-west Scotland
Vet. Rec. 101, 463-4 (1977)

61. MENSH, R.S., M.H. BRAND, F.J. TRONCALE, M.J. MCKINLEY, C.F. SCHOLHAMER:

Campylobacter enterocolitis
J. Clin. Gastroenterol. 3, 147-51 (1981)

62. MENTZING, L.O.:

Waterborne outbreaks of Campylobacter enteritis in central Sweden
Lancet 2, 352-4 (1981)

63. MERTENS, A., M. DE SMET:

Campylobacter cholecystitis
Lancet 1, 1092-3 (1979)

64. NASH, J.Q., U. PATTISON:

Campylobacter -- a recently recognised cause of enteritis
Ir. Med. J. 72, 333-4 (1979)

65. NEWMAN, A., J.R. LAMBERT:

Campylobacter jejuni causing flare-up in inflammatory bowel disease
Lancet 2, 919 (1980)

66. PARK, C.H., F. MCDONALD, A.M. TWOHIG, C.B. COOK:

Septicemia and Gastroenteritis Due to Vibrio fetus
South. Med. J. 66, 531-3 (1973)

67. PEARSON, A.D., W.G. SUCKLING, I.D. RICCIARDI, M. KNILL, E. WARE:

Campylobacter-associated diarrhoea in Southampton
Br. Med. J. 2, 955-6 (1977)

68. PEPPERSACK, F., T. PRIGOGYNE, J.P. BUTZLER, E. YOURASOWSKY:

Campylobacter jejuni post-transfusional septicemia:
Lancet 2, 911 (1979)

69. PRESCOTT, J.F. M.A. KARMALI:

Attempts to transmit Campylobacter enteritis to dogs and cats
Can. Med. Assoc. J. 119, 1001-2 (1978)

70. QUINN, T.C., L. COREY, R.G. CHAFFEE, M.D. SCHUFFLER, K.K. HOLMES:

Campylobacter proctitis in a homosexual man
Ann. Intern. Med. 93, 458-9 (1980)

71. RETTIG, P.J.:

Campylobacter infections in human beings
J. Pediatr. 94, 855-64 (1979)

72. RIBEIRO, C.D.:

Campylobacter enteritis
Lancet 2, 270-1 (1978)

73. RICCIARDI, I.D., M.C. FERRAIRA, S.S. OTTO, N. OLIVEIRA, A. SABR'A, C.F. FONTES:

Thermophilic Campylobacter-associated diarrhoea in Rio de Janeiro
Rev. Bras. Pesqui. Med. Biol. 12, 189-91(1979)

74. RICHARDSON, N.J., H.J. KOORNHOF:

Campylobacter infections in Soweto
S. Afr. Med. J. January 20, 73-4 (1979)

75. RINGERTZ, S., R.C. ROCKHILL, O. RINGERTZ, A.SUTONO:

Campylobacter fetus ss. jejuni as a cause of gastroenteritis in Jakarta, Indonesia
J. Clin. Microbiol. 12, 538-40 (1980)

76. ROBINSON, B.L.:

Infection in humans with Campylobacter fetus
Can. med. Assoc. J. 118, 1087-8 (1978)

77. ROBINSON, D.A., W.J. EDGAR, G.L. GIBSON, A.A. MATCHETT, L. ROBINSON:

Campylobacter enteritis associated with consumption of unpasteurised milk
Br. Med. J. 1, 1171-3 (1979)

78. ROBINSON. D.A., D.M. JONES:

Milk-borne campylobacter infection
Br. Med. J. 282, 1374-6 (1981)

79. SIMMONS, N.A., F.J. GIBBS:

Campylobacter enteritis
Br. Med. J. 2, 264 (1977)

80. SKIRROW, M.B.:

Campylobacter enteritis: a "new" disease
Br. Med. J. 2, 9-11 (1977)

81. SMITH, J.P., K. DURFEE, J.H. MARYMONT:

Incidence of campylobacter enteritis in the Midwestern United States
Am. J. Med. Technol. 46, 81-4 (1980)

82. STEELE, T.W., S. MCDERMOTT:

Campylobacter enteritis in South Australia
Med. J. Aust. 2, 404-6 (1978)

83. STICHT-GROH, V., I. ROHLAND, H. SEELIGER:

Bakterien der Gattung Campylobacter als Ursache von Enteritis-Erkrankungen
Dtsch. med. Wschr. 104, 1375 (1979)

84. TANNER, E.I., C.H. BULLIN:

Campylobacter enteritis
Br. Med. J. 2, 579 (1977)

85. TARGAN, S.R., A.W. CHOW, L.B. GUZE:

Campylobacter fetus associated with pulmonary abscess and empyema
CHEST 71, 105-8 (1977)

86. TAYLOR, P.R., W.M. WEINSTEIN, J.H. BRYNER:

Campylobacter fetus infection in human subjects associated with raw milk
Am. J. Med. 66, 779-83 (1979)

87. TEDESCO, L.F., F. ERRICO, L.P. DEL BAGLIVI:

Comparison of three sampling methods for the

diagosis of genital vibriosis in the bull
Aust. Vet. J. 53, 470-2 (1977)

88. TORPHY, D.E., W.W. BOND:

Campylobacter fetus infections in children
Pediatrics 64, 898-903 (1979)

89. ULLMANN,U:

Campylobacter fetus als Krankheitserreger unter besonderer Berücksichtigung der Meningitis des Neugeborenen
Sonderdruck aus Bücherei des Pädiaters, Heft 80
Neugeborenen-Infektionen
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 1978

90. ULLMANN, U.:

1. Die bakteriologische Diagnostik der Vibrio fetus-Infektion des Menschen
Zbl. Bakt. Hyg. Abt. I, Orig. A 230 (1975)480-491

2. Biochemische und serologische Untersuchungen an Geißeln von Campylobacter fetus.
Zbl. Bakt. Hyg. Abt. I, Orig. A 234 (1976)346-361

91. ULLMANN, U.:

Methods in Microbiology
Volume 13, chapter 10
Methods in Campylobacter
435-52 (1979)
Academic Press

92. URMAN, J.D., R.B. ZURIER, N.F. ROTFIELD:

Reiter's syndrome associated with Campylobacter fetus infection
Ann. Intern. Med. 86, 444-5 (1977)

93. VANHOOF, R., M.P. VANDERLINDEN, R. DIERICKX, S. LAUWERS, E. YOURASSOWSKY, J.P. BUTZLER:

Susceptibility of Campylobacter fetus ss. jejuni to Twenty-Nine Antimicrobial Agents
Antimicrob. Agents and Chemother. 14, 553-6 (1978)

94. WATSON, L.A., H.J. BROOKS, G. SCRIMGEOUR:

Campylobacter enteritis and Yersinia enterocolitis infection in New Zealand
Nz. Med. J. 90, 240-2 (1979)

95. WILLIAMS, G.V., G.J. DEACON:

Campylobacter: common cause of enteritis in an infectious diseases hospital
Med. J. Aust. 2, 268-71 (1980)

96. WOZNIAK, R., J. MUDDLETON, H. CHMEL, C. DE LA CRUZ, R. YOUNG:

Gram-negative Endocarditis caused by Campylobacter fetus
South. Med. J. 71, 1311-2 (1978)

97. WRIGHT, E.P.:

Meningisme associated with Campylobacter jejuni enteritis
Lancet 1, 1092 (1979)

98. YANAGISAMA, S.:

Large outbreak of Campylobacter enteritis among schoolchildren
Lancet 2, 153 (1980)

Ich danke Herrn Professor Dr.med. K.Botzenhart für die Überlassung eines Arbeitsplatzes im Hygiene-Institut.

Ich danke Herrn Professor Dr.med. U.Ullmannn für das Thema und die Unterstützung und Beratung bei der Durchführung der Arbeit.

An dieser Stelle bedanke ich mich auch beim bakteriologischen Labor der Universitäts-Kinderklinik für die freundliche Hilfe bei der Beschaffung der Stuhlproben und bei den Mitarbeitern der Nährbodenküche des Hygiene-Instituts für die Unterstützung bei der Zubereitung der erforderlichen Nährsubstrate.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor J.P. Butzler und seinen Mitarbeitern für die Überlassung zahlreicher Campylobacter-Stämme, und für die Möglichkeit, daß ich im mikrobiologischen Labor des Hopital Universitaire Saint-Pierre, Bruxelles, persönlich für die Durchführung der Arbeit hilfreiche Erfahrungen sammeln konnte.

LEBENSLAUF

Am 4. September 1956 wurde ich, Susan Brit Kischkel, als Tochter des Dr. rer. pol. Walter Kischkel und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Baur, in Reutlingen geboren.

Von 1963 bis 1966 besuchte ich die Grundschule in Reutlingen und anschließend das neusprachliche Isolde-Kurz-Gymnasium ebenfalls in meiner Heimatstadt.
1975 legte ich die Reifeprüfung ab.

Zum Wintersemester 1975/76 nahm ich das Medizinstudium an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen auf. Im August 1977 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab, und im August des folgenden Jahres bestand ich den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung. Dem zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung unterzog ich mich im März 1981.

Nachdem ich den ersten Abschnitt des Internatsjahres in Tübingen an der Universitäts-Nervenklinik mit dem Wahlfach Psychiatrie abgeleistet hatte, nahm ich am Akademischen Lehrkrankenhaus in Sigmaringen an der klinisch-praktischen Ausbildung in den Fächern Chirurgie und Innere Medizin teil.

Den dritten Teil der ärztlichen Prüfung habe ich am 20. April 1982 mit Erfolg abgeschlossen.